

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA



TESIS DOCTORAL

**Anticuerpos específicos de enfermedad celíaca: relación con otros
pruebas diagnósticas e implicaciones clínicas**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Romina Dieli Crimi

Directores

Natalia López Palacios
Andrés Bodas Pinedo

Madrid, 2017



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA
Programa de Doctorado en
Ciencias Biomédicas

**ANTICUERPOS ESPECÍFICOS DE ENFERMEDAD CELÍACA:
RELACIÓN CON OTRAS PRUEBAS DIAGNÓSTICAS
E IMPLICACIONES CLÍNICAS**

Tesis doctoral presentada por

Romina Dieli Crimi

Bajo la dirección de los doctores:

M Concepción Núñez Pardo de Vera

Natalia López Palacios

Andrés Bodas Pinedo

Madrid 2016



EL PROF. JESÚS RUIZ CONTRERAS, PROFESOR TITULAR DE PEDIATRÍA Y DIRECTOR DEL DEPARTAMENTO DE PEDIATRÍA DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID,

HACE CONSTAR

Que el trabajo de investigación titulado: “ANTICUERPOS ESPECÍFICOS DE ENFERMEDAD CELIACA: REALCIÓN CON OTRAS PRUEBAS DIAGNÓSTICAS E IMPLICACIONES CLÍNICAS” realizado por Dña. Romina DIELI CRIMI, en el DEPARTAMENTO DE PEDIATRÍA DE LA UCM PARA OPTAR al GRADO DE DOCTOR, destaca por:

Objetivos: Están claramente definidos en apartados independientes.

Material y métodos: Se trata de un estudio retrospectivo, realizado en el Servicio de Inmunología del Hospital Clínico San Carlos. Los casos fueron pacientes que se había sometido al cribado de enfermedad celiaca y controles los trabajadores del centro sanos.

Resultados: Los resultados están descritos detalladamente.

Discusión: La interpretación de los hallazgos se hace de forma estructurada y correcta. Destacando el interés práctico que tiene el apartado de aplicabilidad de los resultados obtenidos en la práctica clínica.

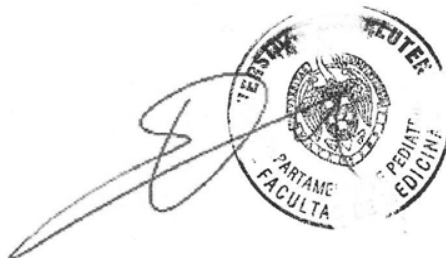
Conclusiones: Se establecen conclusiones con relevancia clínica suficiente.

Bibliografía: Se citan 175 referencias correctamente citadas.

Conclusión: Es un trabajo terminado y original, con una metodología y relevancia clínica suficiente. Por todo ello, no hay inconveniente para ser aceptado por el Departamento de Pediatría y, en su caso, por la Comisión de Doctorado de la Universidad Complutense de Madrid, para ser defendido en sesión pública y optar al Grado de Doctor en Medicina.

Madrid, 23 de febrero de 2016.

EL DIRECTOR DEL DEPARTAMENTO DE PEDIATRÍA,

A handwritten signature in dark ink is written over a circular official stamp. The stamp contains the text "UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID" around the top edge, "FACULTAD DE MEDICINA" around the bottom edge, and "DEPARTAMENTO DE PEDIATRÍA" in the center. The signature is a stylized, cursive script.

Fdo.: Prof. Jesús Ruiz Contreras.



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE PEDIATRÍA

Hospital Clínico San Carlos

Martín Lago, s/n - 28040 Madrid

Tels.: 91 330 35 00 / 55

Fax: 91 330 35 53

La Dra. M Concepción Núñez Pardo de Vera, investigadora de la Fundación de Investigación del Hospital Clínico San Carlos.

La Dra. Natalia López Palacios, facultativa especialista en Aparato digestivo del Hospital Clínico San Carlos.

Y el Dr. Andrés Bodas Pinedo, facultativo especialista en Pediatría del Hospital Clínico San Carlos.

CERTIFICAN:

Que el trabajo titulado **"Anticuerpos específicos de enfermedad celíaca: relación con otras pruebas diagnósticas e implicaciones clínicas"** ha sido realizado bajo su dirección en el Servicio de Inmunología clínica del Hospital Clínico San Carlos de Madrid por Dña. Romina Dieli Crimi, licenciada en Medicina por la Universidad Nacional de Córdoba Argentina homologado por el Ministerio de Ciencia e Innovación del Gobierno de España, para optar al GRADO DE DOCTORA por la Universidad Complutense de Madrid.

Madrid, 03 de Febrero de 2016

M Concepción Núñez
Pardo de Vera

Natalia López Palacios

Andrés Bodas Pinedo

*"Not explaining science seems to me perverse.
When you're in love, you want to tell the world"*

Carl Sagan (1934-1996)

A mi familia

En primer lugar quisiera agradecer a mis directores de tesis, Dra. Núñez, Dra. López Palacios y Dr. Bodas que me dieron la oportunidad de trabajar con ellos y participar en sus líneas de investigación. Agradezco mucho el apoyo que me han brindado cada uno desde su ámbito, Natalia permitiéndome trabajar a su lado en la consulta de celiaquía y disponible a lo que necesitara, Andrés siempre dispuesto a discutir los casos y también ayudándome en lo que necesitase; y Conchi por sus innumerables explicaciones, por dedicarme tanto tiempo, por toda la paciencia, por apoyarme en todo, sos una gran referente profesionalmente y como persona, gracias. Sin las enseñanzas de ellos tres y la paciencia que me han tenido, este trabajo no hubiera llegado a buen puerto.

También quiero agradecer a todo el personal del Servicio de Inmunología del Hospital Clínico San Carlos, a las personas que ya se jubilaron y a las que aún continúan, por haberme acogido y tratado con tanto cariño, aprendí mucho con todas ustedes, siempre las recordaré con mucha alegría. A Ma Ángeles Figueredo y Emilio Gómez de la Concha por permitirme ser parte de su equipo y así poder iniciar mi carrera de especialista y de investigadora, a Silvia Sánchez-Ramón y José Luis Subiza por darme la posibilidad de continuar en el servicio.

No puedo olvidarme de todos los becarios y residentes que han pasado por el servicio, conocí grandes personas y me llevo muchos amigos. Entre ellos, Arturo, Gorka, Luzma, María, etc. Miky agradezco mucho el apoyo que me has dado y debo confesar que me encantó ser tu “R2 médico” favorita. A nuestro “resi consorte”, Félix definitivamente nuestras comidas no hubieran sido lo mismo sin ti. Alex y July caracterizadas por esa alegría constante que transmiten. Y las más importantes, Lidia, Vir y Bel, mis “inmunogirls”, por nuestras charlas, por nuestras cañitas, por escucharme y apoyarme, porque siempre han estado ahí y seguiremos estando...

Quisiera agradecer también a todos los pacientes que colaboraron y colaboran con nuestra investigación desinteresadamente, sin su ayuda la mayoría de nuestros estudios no serían posibles.

A mis padres por todos los esfuerzos invertidos en mi formación, por inculcarme el trabajo y el esfuerzo, por respetar mis decisiones y por apoyarme en

cada paso que doy. A mis hermanos y a Guada, que aunque obtuvieran la misma respuesta semana tras semana al preguntarme como iba con la tesis, son pilares importantes en mi vida.

Por último quisiera agradecer a una de las personas más importantes, a quien me enseñó que *"cuando eliminas lo imposible, lo que queda, aunque improbable, debe ser la verdad"*; gracias por tu paciencia infinita, por tu apoyo incondicional, por levantarme en esos momentos en los que flaqueaba. Definitivamente sin vos, este trabajo no hubiera sido posible.

ÍNDICE

ÍNDICE	3
ÍNDICE DE FIGURAS.....	5
ÍNDICE DE TABLAS.....	7
GLOSARIO DE ABREVIATURAS	9
RESUMEN / SUMMARY.....	11
1.1. Resumen	13
1.2. Summary.....	21
INTRODUCCIÓN	27
1. Etimología y contexto histórico de la Enfermedad Celíaca	29
2. Definición y epidemiología	32
3. Etiología	34
3.1. Factores ambientales	35
3.2. Genética	37
4. Inmuno-patogénesis	42
5. Clasificación y formas clínicas	46
6. Manifestaciones clínicas.....	50
6.1. Población pediátrica.....	50
6.2. Población adulta.....	51
6.3. Condiciones asociadas	52
7. Diagnóstico	54
7.1. Anticuerpos	54
7.2. HLA	62
7.3. Biopsia	63
7.4. Nuevas herramientas diagnósticas	65
7.5. Guías clínicas	66
7.6. Diagnóstico diferencial.....	73
7.7. Iceberg celíaco.....	74
8. Tratamiento y pronóstico	76

OBJETIVOS	79
MATERIALES Y MÉTODOS.....	83
1. Estudio de subgrupos serológicos	85
1.1. Sujetos de estudio	85
1.2. Estudio serológico	86
1.3. Estudio genético: genotipado HLA.....	87
1.4. Estudio histopatológico.....	87
1.5. Criterios diagnósticos	88
1.6. Diagnóstico diferencial.....	89
1.7. Análisis estadístico	89
2. Evaluación de pruebas diagnósticas.....	90
3. Estudio comparativo.....	91
RESULTADOS.....	93
1. Individuos seropositivos para a-TG2-GL y EMA.....	95
2. Individuos seropositivos para a-TG2-GL pero EMA negativos	99
3. Individuos seropositivos sólo para a-PDG IgG.....	110
4. Individuos seronegativos.....	114
5. Estudio de validez diagnóstica.....	116
6. Estudio comparativo.....	118
Casos clínicos	121
DISCUSION	131
Futuras perspectivas	157
CONCLUSIONES.....	159
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	163

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Niña celíaca pre-dieta y tras 3 meses de dieta sin trigo.....	30
Figura 2. Prevalencia mundial de la EC.	33
Figura 3. Localización de los genes HLA en el cromosoma 6.	38
Figura 4. Representación de los genes y las moléculas HLA-DQ asociadas con la EC. ..	39
Figura 5. Diferentes niveles de riesgo basados en la dosis génica HLA.	40
Figura 6. Inmuno-patogénesis de la EC.	44
Figura 7. Interpretación de la teoría de eventos múltiples.....	45
Figura 8. Clasificación de los trastornos relacionados con el gluten.	49
Figura 9. Diagnóstico de la EC.	54
Figura 10. Endomysio positivo en porta-objeto con corte de esófago de mono.	56
Figura 11. Imagen del complejo de péptidos modificados de gliadina-TG2.....	59
Figura 12. Situaciones en las que se recomienda la realización del tipaje HLA.....	63
Figura 13. Algoritmos diagnósticos propuestos por la ESPGHAN.....	68
Figura 14. Iceberg de la Enfermedad Celíaca.....	76
Figura 15. Imágenes de biopsias de pacientes celíacos sin HLA de riesgo para EC.	108
Figura 16. Imágenes de biopsias de pacientes celíacos con HLA-DQ7.5.	109
Figura 17. Imágenes histológicas de biopsias de duodeno e hígado del caso nº3.	127
Figura 18. Diagnóstico de la EC.	133
Figura 19. Imagen esquemática del círculo vicioso que se genera en consecuencia de la demora en el diagnóstico.	145
Figura 20. Aplicación del algoritmo de la ESPGHAN en pacientes con síntomas.	153
Figura 21. Aplicación del algoritmo de la ESPGHAN en pacientes asintomáticos pertenecientes a grupos de riesgo.	154
Figura 22. Imagen representativa del iceberg de la EC.....	156

ÍNDICE DE TABLAS

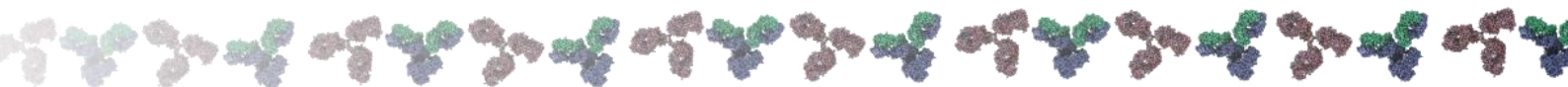
Tabla 1. Prevalencia de la EC en España.	33
Tabla 2. Espectro clínico de la EC en la población pediátrica.	51
Tabla 3. Espectro clínico de la EC en la población adulta.	52
Tabla 4. Condiciones asociadas a la EC en niños y adultos.	53
Tabla 5. Principales características de los auto-anticuerpos.	61
Tabla 6. Descripción de las clasificaciones histopatológicas.....	64
Tabla 7. Score para el diagnóstico de la EC propuesto por la ESPGHAN.	69
Tabla 8. Reglas diagnósticas propuestas por Catassi y Fasano.	71
Tabla 9. Diferencias entre los principales trastornos relacionados con el gluten.	74
Tabla 10. Datos demográficos de pacientes a-TG2-GL y EMA positivos.....	95
Tabla 11. Características serológicas y clínicas de 100 pacientes celíacos EMA positivo.	96
Tabla 12. Datos histopatológicos y genéticos de pacientes celíacos EMA positivo.	99
Tabla 13. Datos demográficos de pacientes con a-TG2-GL positivo y EMA negativo.	100
Tabla 14. Características de pacientes pediátricos EMA negativo.	101
Tabla 15. Características de pacientes adultos EMA negativo.	104
Tabla 16. Datos histopatológicos de individuos celíacos EMA negativo.	106
Tabla 17. Distribución del riesgo genético en los diferentes grupos de pacientes celíacos y en controles (N (%)).	107
Tabla 18. Datos demográficos de pacientes con a-PDG positivo.....	110
Tabla 19. Características de los 97 pacientes pediátricos con a-PDG positivo.....	111
Tabla 20. Características de los 323 pacientes adultos con a-PDG positivo.....	113
Tabla 21. Principales características de los pacientes celíacos con a-PDG positivo. ...	114
Tabla 22. Características de pacientes con EC seronegativa.	115

Tabla 23. Resultados del anticuerpo a-TG2-GL.	116
Tabla 24. Resultados del anticuerpo a-PDG.	117
Tabla 25. Resultados del anticuerpo EMA.	117
Tabla 26. Resultados positivos tras el análisis de pacientes celíacos con a-TG2-GL positivo con diferentes kits de anticuerpo a-TG2.	119
Tabla 27. Resultados positivos tras el análisis con los diferentes kits de anticuerpo a-PDG en los diagnosticados como EC.	120
Tabla 28. Resultados de los diferentes análisis realizados al paciente del caso nº3 en Enero y Marzo de 2011.....	126

GLOSARIO DE ABREVIATURAS

AGA	<i>Anti-gliadin antibody</i> – Anticuerpo anti-gliadina
ANA	<i>Antinuclear antibody</i> – Anticuerpo anti-nuclear
a-PDG	Anticuerpo anti-péptido deamidado de gliadina
a-TG2	Anticuerpo anti-transglutaminasa tisular tipo 2
a-TG2-GL	Anticuerpo anti-TG2 y péptidos modificados de gliadina
CD	<i>Celiac disease</i>
CPA	Célula presentadora de antígeno
DI	Diagnóstico incierto
DlgA	Déficit selectivo de inmunoglobulina A
DM1	Diabetes mellitus tipo 1
DSG	Dieta sin gluten
EATL	<i>Enteropathy-associated T-cell lymphoma</i> – Linfoma de células T asociado a enteropatía
EC	Enfermedad Celíaca
ELISA	<i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i> – Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas
EMA	<i>Endomysial antibodies</i> - Anticuerpo anti-endomisio
ESPGHAN	<i>European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition</i>
GWAS	<i>Genome-wide association studies</i> – Estudios de asociación de barrido genómico
HAI	Hepatitis autoinmune
HbA1c	Hemoglobina glicosilada
HCSC	Hospital Clínico San Carlos
HLA	<i>Human leukocyte antigen</i> – Antígenos leucocitarios humanos
ID	Inmunodeficiencia
IFI	Inmunofluorescencia indirecta
Ig	Inmunoglobulina
LB	Linfocito B
LT	Linfocito T
PDG	Péptidos deamidados de gliadina
POC	<i>Point of care / contact</i> - Punto de contacto
SGNC	Sensibilidad al gluten no celíaca
SPA	Síndrome poliglandular autoinmune
TC	Tomografía computada
TG2	Transglutaminasa tisular tipo 2
VPN	Valor predictivo negativo
VPP	Valor predictivo positivo

RESUMEN / SUMMARY



1.1. Resumen

Introducción

La Enfermedad Celíaca (EC) es una enteropatía autoinmune de carácter crónico, dependiente de gluten y que se acompaña de anticuerpos específicos en individuos predispuestos genéticamente. Los anticuerpos pueden estar dirigidos frente a la enzima transglutaminasa tisular tipo 2 (a-TG2 o anticuerpos frente a endomisio, EMA) o frente a péptidos deamidados de gliadina (a-PDG). Hace unos años se desarrolló un kit que combina la transglutaminasa tisular tipo 2 con péptidos específicos de gliadina (a-TG2-GL) y que por tanto puede detectar anticuerpos frente a TG2, frente a péptidos derivados del gluten y se ha descrito que también frente a neoepítomos que se generan tras el entrecruzamiento fisiológico de la TG2 con péptidos de gliadina. Respecto a la genética, la presencia de las combinaciones alélicas HLA-DQ2 (*DQA1*05-DQB1*02*) y/o HLA-DQ8 (*DQA1*03-DQB1*03:02*), son las consideradas de riesgo a desarrollar la enfermedad. La biopsia duodenal constituye un pilar importante en el diagnóstico, aunque las lesiones encontradas en la EC no son patognomónicas.

Existen varias guías clínicas publicadas y vigentes donde se establecen algoritmos diagnósticos o recomendaciones a seguir. Una de las más importantes es la guía clínica de la ESPGHAN (*European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition*), que plantea dos algoritmos dependiendo del motivo de inicio del estudio, sintomático o perteneciente a grupos de riesgo, pudiendo evitarse la biopsia en niños con síntomas sugerentes de EC, con anticuerpos a-TG2 >10 veces el límite superior de normalidad, EMA positivo y presencia de HLA-DQ2 y/o -DQ8.

Respecto a los adultos, también existen varias guías clínicas y en general establecen todas ellas recomendaciones similares. Además, las reglas propuestas por Catassi y Fasano (reglas “cuatro de cinco”) constituyen una ayuda importante para el diagnóstico de la enfermedad en este grupo, y pueden ser aplicadas también en población pediátrica.

A pesar de los criterios diagnósticos establecidos: anticuerpos, genética HLA y biopsia compatible, en muchas ocasiones el diagnóstico de la EC es complejo, debiéndose tener en cuenta muchas variables para una correcta interpretación de las pruebas. Esta enfermedad se asocia a un importante infra-diagnóstico que se debe a múltiples factores, entre ellos probablemente la necesidad de pruebas de cribado de mayor sensibilidad. Son muchos los individuos que aún permanecen bajo la línea del agua del “iceberg celíaco” por no presentar todos los criterios diagnósticos, generando importantes consecuencias en la calidad de vida de los pacientes, así como la posibilidad de desarrollar complicaciones que podrían evitarse con la instauración de una dieta exenta de gluten.

Objetivos

El principal objetivo de este trabajo fue tratar de reducir la parte sumergida del iceberg celíaco mediante un estudio en profundidad de las diferentes características que pueden presentar los enfermos celíacos de acuerdo con su serología específica.

Los objetivos específicos planteados fueron los siguientes:

1. Estudiar la utilidad diagnóstica del anticuerpo a-TG2-GL de tipo IgA que detecta anticuerpos frente a TG2, péptidos derivados de gliadina y presuntamente neoepítomos.
2. Estudiar la utilidad diagnóstica del anticuerpo a-PDG de tipo IgG.
3. Estudiar las diferentes características que presentan los pacientes celíacos clasificados de acuerdo al anticuerpo específico presente.
4. Estudiar si los individuos celíacos que escapan a los criterios habituales de diagnóstico presentan características comunes que faciliten su diagnóstico.

Materiales y métodos

Realizamos un estudio retrospectivo incluyendo individuos que iniciaron el estudio de cribado para EC en el Servicio de Inmunología Clínica del Hospital Clínico San Carlos. Clasificamos y analizamos a los individuos en cuatro grupos según los resultados de serología obtenidos: 1) EMA positivo; 2) a-TG2-GL positivo y EMA negativo; 3) a-PDG positivo y a-TG2-GL y EMA negativo y 4) seronegativos. El segundo grupo fue el estudiado en mayor profundidad por la escasez de datos en la literatura.

Con el fin de evaluar la validez de los anticuerpos que se utilizan, realizamos un estudio de fiabilidad diagnóstica de cada uno de los anticuerpos y un estudio comparativo con diferentes casas comerciales.

Resultados y Discusión

Encontramos un grupo particular de pacientes celíacos, con negatividad frente a los anticuerpos convencionales (EMA y a-TG2) pero con serología positiva frente al

anticuerpo a-TG2-GL, que constituyen aproximadamente el 15% de todos los individuos con diagnóstico de EC. Dentro de las características particulares que encontramos en este grupo de pacientes podemos citar:

- Clínica: en la población adulta se observa mayor frecuencia de anemia ferropénica e hipertransaminasemia en la población celíaca con a-TG2-GL positivo y EMA negativo que en pacientes EMA positivo. En cuanto a los niños no se observaron diferencias respecto a la clínica presentada entre los distintos grupos analizados.
- Anticuerpos: los niveles medios del anticuerpo a-TG2-GL en la población celíaca infantil con EMA negativo son más altos que en individuos no diagnosticados con EC, diferencia que no se observa al considerar la población adulta. No obstante, los valores medios de a-TG2-GL en este grupo de niños con EC es menor que el observado en niños celíacos positivos frente a EMA.
- Biopsia: en el grupo de pacientes a-TG2-GL positivo con EMA negativo la lesión histológica predominante correspondió a un Marsh 3a, aunque con representación del resto de lesiones posibles. En nuestro grupo de individuos con EMA positivo, niños y adultos, todas las lesiones observadas fueron Marsh 3b y 3c.
- Genética HLA: encontramos en los EC a-TG2-GL positivo con EMA negativo, tanto niños como adultos, una frecuencia de HLA-DQ2.5 del 51%, muy inferior al 95% observado en nuestros celíacos con EMA positivo. Además, dentro de los celíacos sin HLA-DQ2 se observó sólo un 19% de HLA-DQ8 y el porcentaje más elevado (37,5%) correspondió a individuos que presentaban el alelo *HLA-*

*DQA1*05*. Estas cifras difieren bastante de lo publicado y aceptado en relación a la frecuencia de los haplotipos asociados con la enfermedad, que podría estar en parte en relación con el alto valor predictivo negativo otorgado a la prueba genética en EC, de manera que cuando un paciente no presenta las moléculas HLA-DQ de riesgo genético conocidas y aceptadas (HLA-DQ2/DQ8), la EC es descartada.

Respecto al anticuerpo a-PDG de tipo IgG, observamos que su presencia en pacientes seronegativos frente al EMA y frente a a-TG2-GL, permite diagnosticar un bajo porcentaje de individuos (3% en población pediátrica y 1% en adultos), sin poder encontrar características en estos pacientes que ayuden a su diagnóstico.

En nuestro estudio de validez diagnóstica para los anticuerpos EMA, a-TG2-GL y a-PDG empleados por rutina en nuestro laboratorio (de Immco, Aesku y Euroimmun, respectivamente) encontramos que los resultados obtenidos para el EMA constituyen los ideales (sensibilidad, especificidad, valor predictivo negativo (VPN) y positivo (VPP) del 100%). Sin embargo este anticuerpo tiene desventajas que hacen que no sea el anticuerpo de primera línea de cribado serológico, además de que el valor del 100% no es real, como ponen de manifiesto nuestros estudios aquí descritos. Respecto a los otros dos anticuerpos, el a-PDG mostró que es un kit que tiene un rendimiento diagnóstico muy bajo, con baja sensibilidad (66%) y VPP (22%). El a-TG2-GL presentó una sensibilidad y especificidad del 100% y 96%, respectivamente; y en cuanto a los VPP y VPN, resultaron del 11,8% y 100%, respectivamente. Sin embargo, hay que considerar que nuestro estudio de validez diagnóstica no permite extraer resultados del todo concluyentes dada la baja prevalencia de la EC y la baja probabilidad pre-test

(en torno al 0,5% para los tres anticuerpos). Estas características exigen trabajar con tamaños de muestras más elevados que aquellos de los que disponíamos. No obstante, parece claro que ninguno de estos kits de anticuerpos permite detectar el 100% de pacientes celíacos.

Tras realizar un estudio comparativo con kits de distintas casas comerciales, no encontramos que ninguno de los kits comerciales evaluados resulte útil para el cribado de los pacientes a-TG2-GL positivo con EMA negativo aquí descritos.

Los resultados hasta ahora expuestos, nos permitieron confirmar que el kit a-TG2-GL no tiene una buena precisión diagnóstica, pero nos ha permitido identificar un grupo de celíacos con características particulares: lesiones histológicas más leves y bajo riesgo genético. Estas características hacen que su diagnóstico sea complejo.

Conclusiones

1. Algunos pacientes celíacos que muestran negatividad frente a EMA presentan anticuerpos a-TG2-GL. Sin embargo, la baja especificidad de este anticuerpo cuestiona su uso generalizado en la práctica clínica.
2. Los anticuerpos frente a PDG no parecen contribuir de manera relevante al diagnóstico de pacientes celíacos seronegativos para los otros anticuerpos empleados en el diagnóstico. Esto se observa tanto en población pediátrica como adulta.
3. Los pacientes celíacos caracterizados por presentar anticuerpos frente a a-TG2-GL pero no frente a EMA, muestran un predominio de genética HLA de bajo riesgo a EC, así como menor grado de lesión de la mucosa intestinal que los pacientes EMA positivos.

4. El alelo *HLA-DQA1*05*, cuyo papel en el riesgo a la EC es controvertido, es el alelo más frecuente en los individuos celíacos positivos para a-TG2-GL y negativos para EMA que carecen del heterodímero HLA-DQ2.
5. El conocimiento actual sobre la EC está basado principalmente en pacientes con la genética HLA de mayor riesgo, anticuerpos específicos positivos y atrofia intestinal. Si bien éstos constituyen la gran mayoría de los pacientes, los individuos celíacos con características poco frecuentes representan muy probablemente un grupo no despreciable pero claramente infra-diagnosticado.
6. Con el objetivo de evitar errores en el diagnóstico y las complicaciones que conlleva la demora en el mismo, creemos que es necesario realizar una revisión de los criterios diagnósticos actuales con el fin de incluir a todos aquellos pacientes que escapan de los actuales algoritmos y reducir de esta forma el infra-diagnóstico asociado con esta enfermedad.

1.2. Summary

Introduction

Celiac disease (CD) is a chronic autoimmune enteropathy which is developed after gluten-ingestion in genetically susceptible individuals and commonly appears accompanied by specific antibodies. These antibodies can be directed against type 2 transglutaminase enzyme (a-TG2 or endomysial antibodies, EMA) or deamidated gliadin peptides (a-DGP). Years ago, a different commercial kit which combine type 2 transglutaminase and specific gliadin peptides was developed (a-TG2-GL), which can detect antibodies against TG2, against gluten-derived peptides and it has been described that it also recognizes neoepitopes that are generated after the physiological crosslinking between TG2 and gliadin peptides. Regarding genetics, the HLA-DQ2 (*DQA1*05 - DQB1*02*) and/or HLA-DQ8 (*DQA1*03 - DQB1*03:02*) haplotypes are the ones considered to confer risk to develop the disease. Duodenal biopsy has an important diagnostic value, although the lesions found in CD are not pathognomonic.

Several clinical guidelines proposing different diagnostic algorithms or recommendations exist. One of the most important guide is the one suggested by the European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (ESPGHAN), which proposes two algorithms depending on the reason of study (symptomatic or belonging to risk groups) and states that biopsy can be avoided in children with concurrence of signs or symptoms suggestive of CD, a-TG2 levels exceeding 10 times the upper limit of normal, positivity for EMA and presence of HLA-DQ2/DQ8. For adults, there are several clinical guidelines that commonly provide

similar recommendations. In addition, the rules proposed by Catassi and Fasano are an important support for CD diagnosis and can be also applied to pediatric population.

Despite the established diagnostic criteria, many cases show a difficult diagnosis, and many variables are necessary for a correct interpretation of the diagnostic tests. This disease is associated with a significant under-diagnosis, which is due to different factors, including the need for screening tests of higher sensitivity. Many individuals remain under the waterline of the "celiac iceberg" because they do not present all the diagnostic criteria, with the consequent impact on their quality of life and the possibility of developing health complications that could be avoided with the beginning of a gluten-free diet.

Aims

The main objective of this work was to try to reduce the submerged part of the celiac iceberg by studying the different features that may present celiac patients according to their specific serology.

The specific objectives were:

1. To establish the diagnostic utility of the IgA a-TG2-GL antibody, which detects antibodies against TG2, gliadin-derived peptides and presumably neoepitopes.
2. To study the diagnostic value of the IgG a-DGP antibody.
3. To study the different characteristics shown by celiac patients, classified according to the specific antibodies they presented.
4. To study if the celiac individuals who do not fit in the current diagnostic criteria, share some characteristics that facilitate their diagnosis.

Materials and methods

We conducted a retrospective study including those individuals who initiated the screening study for CD at the Clinical Immunology Department of the Hospital Clínico San Carlos. We classified and analyzed the individuals into four groups based on the obtained serological results: 1) EMA positive; 2) a-TG2-GL positive and EMA negative; 3) a-DGP positive and a-TG2-GL and EMA negative and 4) seronegative. The second group was the most extensively studied due to the scarce data in the literature.

In order to evaluate the validity of the antibodies, we performed a study of diagnostic reliability for each antibody.

Results and Discussion

We found a particular group of celiac patients, who are seronegative for the conventional antibodies (EMA and a-TG2) but show positive serology for a-TG2-GL. They, constitute about 15% of all diagnosed celiac patients. Among the particular features found in this group of patients, we can mention:

- Symptoms and signs: in adult population we observed a higher frequency of iron deficiency anemia and hypertransaminasemia in the a-TG2-GL positive and EMA negative population than in EMA positive CD patients. In children, no differences were observed among the different groups analyzed.
- Antibodies: the mean levels of a-TG2-GL in EMA negative celiac children are higher than in individuals do not diagnosed with CD; this difference was not observed in adult population. However, mean values of a-TG2-GL in this group of CD children is smaller than that observed in EMA positive celiac children.

- Biopsy: in the a-TG2-GL positive and EMA negative group the predominant histological lesion was Marsh 3a, but with representation of the other degrees of tissue injury. In our group of EMA positive individuals, children and adults, all the lesions observed were Marsh 3b and 3c.
- HLA genotype: 51% of our a-TG2-GL positive and EMA negative celiac patients (children and adults) showed HLA-DQ2.5, this percentage is much lower than the 95% observed in our EMA positive celiac patients. In individuals without HLA-DQ2.5, HLA-DQ8 was present in 19% of the cases and *HLA-DQA1*05* appeared at the highest percentage (37.5%). These numbers differ considerably from the accepted frequency of HLA haplotypes associated with the disease, which could be in part because CD is ruled out in patients lacking the HLA risk molecules.

Regarding the IgG a-DGP antibody, we observed that its presence in seronegative patients for EMA and a-TG2-GL allowed physicians to diagnose a low percentage of individuals (3% in pediatric population and 1% in adults), without finding any features in these patients to help diagnosis.

In our study of diagnostic reliability for the studied antibodies: a-TG2-GL (Aesku), a-DGP (Euroimmun) and EMA (Immco), we found that the results obtained for the EMA are the ideal (100% for sensitivity, specificity, negative and positive predictive value (NPV and PPV, respectively)). However, this antibody has some disadvantages that make it not to be the first line of serological screening, besides 100% is not a real value as our results here described show. Regarding the other two antibodies, a-DGP showed a very low diagnostic yield, with low sensitivity (66%) and PPV (22%). The a-

TG2-GL showed a sensitivity and specificity of 100% and 96%, respectively, and 11.8% and 100% for PPV and NPV, respectively. However, our study do not allow us to obtain conclusive results, given the low prevalence of the disease and the low pre-test probability (around 0.5% for the three antibodies). These characteristics require working with higher sample sizes than those we had available. However, it seems clear that none of these antibody kits allow detection of 100% of celiac patients.

After performing a comparative study with different comercial kits, we found that none of the evaluated kits was useful for detecting the patients a-TG2-GL positive and EMA negative here described.

The results so far exposed allowed us to confirm that the kit a-TG2-GL does not have a good diagnostic accuracy, but may help to identify patients with specific characteristics: milder histological lesions and low genetic risk. These features lead to a complex diagnosis.

Conclusions

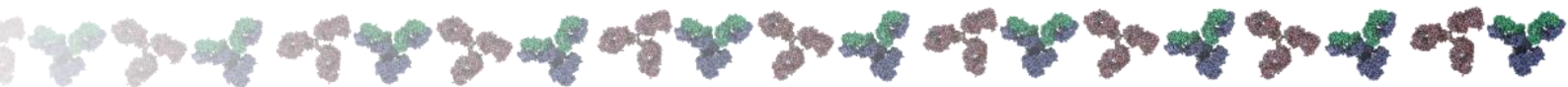
1. Some EMA-negative celiac patients show a-TG2-GL antibodies. However, the low specificity of this antibody questions their widespread use in clinical practice.
2. Antibodies against DGP do not seem to contribute significantly to the diagnosis of seronegative celiac patients. This is seen in both, pediatric and adult populations.
3. Celiac patients characterized by having antibodies against a-TG2-GL but not against EMA, show a predominance of low-risk HLA alleles for CD, as well as lesser degrees of intestinal damage.

4. The *HLA-DQA1*05* allele, with a controversial role in CD risk, was the most frequent allele observed in a-TG2-GL positive and EMA negative celiac individuals lacking the HLA-DQ2 heterodimer.

5. The current knowledge about CD is based mainly on patients with high genetic risk, positive specific antibodies and intestinal atrophy. Although these correspond to the majority of the diagnosed patients, CD individuals with uncommon characteristics represent most likely a non-negligible group which is clearly under-diagnosed.

6. In order to avoid misdiagnosis and complications due to diagnostic delay, we believe it is necessary to review current diagnostic criteria in order to include those patients who are outside the current algorithms.

INTRODUCCIÓN



1. Etimología y contexto histórico de la Enfermedad Celíaca

La Enfermedad Celíaca (EC) tiene sus orígenes en la antigüedad. El término *celíaca* deriva de la palabra latina *coeliacus* (vientre) y de la palabra griega *koiliakos* (intestino). Fue descrita y documentada por primera vez en el siglo II d.C. por Areteo de Capadocia, médico helenístico-romano, quien la definió como una enfermedad caracterizada por la *“eliminación de alimentos sin digerir, acompañada de emaciación y debilidad”*, advirtiendo que el pan no era un alimento propicio. Sin embargo, no fue hasta 1856 cuando se conoció esta descripción a través de Francis Adams, quien tradujo los trabajos de Areteo para la *Sydenham Society* ^{1, 2}.

No obstante, se atribuye la primera descripción de la enfermedad al médico británico Samuel Gee en 1888, quien la describió como una afección crónica que se presentaba a cualquier edad, sugiriendo que la regulación de la alimentación constituía la parte más importante del tratamiento ³. En 1908, el pediatra inglés Christian Herter introduce en su libro un nuevo concepto de la enfermedad al asociarla a un sobrecrecimiento de la microbiota intestinal con mala tolerancia a los hidratos de carbono y grasas; a partir de este hecho la EC fue denominada durante un tiempo *“Enfermedad de Gee-Herter”* o *“Infantilismo de Herter”* ².

La relación con la alimentación vislumbrada ya en el siglo II d.C. fue adquiriendo mayor relevancia con el paso de los años. En 1918, el pediatra inglés Frederick Still reintroduce el concepto de Areteo sobre el efecto nocivo del pan en estos pacientes ⁴; y entre 1921 y 1938 las investigaciones se fueron orientando hacia una intolerancia a los hidratos de carbono ². Se recomendaron numerosas dietas, con diferente éxito. Por

ejemplo, el pediatra holandés Willem-Karel Dicke, concluía en 1950 en su tesis doctoral, que con la exclusión del trigo, avena y centeno se objetivaba una mejoría de la sintomatología, con posterior recaída tras la reintroducción de los mismos. Más tarde, junto con Van de Kamer y Weijers, demostró que el efecto tóxico de la harina estaba ligado a la fracción proteica (gluten), relacionando a ésta con la malabsorción grasa y la consecuente esteatorrea ⁵.

Paralelamente en Birmingham, Charlotte Anderson demostraba que el gluten y proteínas relacionadas producían daño en la mucosa intestinal de pacientes celíacos ⁶ (Figura 1). Años más tarde, en 1954, se describieron por primera vez los cambios histopatológicos de la EC en piezas quirúrgicas de pacientes adultos ⁷ y niños celíacos ⁸, y posteriormente la recuperación de la mucosa tras la dieta sin gluten (DSG) ⁹.

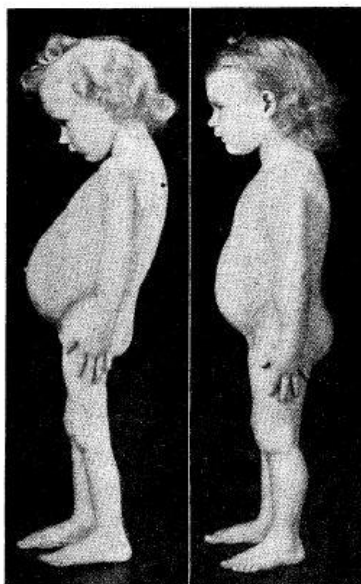


Figura 1. Niña celíaca pre-dieta y tras 3 meses de dieta sin trigo.
Imagen adaptada de Anderson C. *et al* ⁶.

Entre 1964 y 1971, se modificó el paradigma de la enfermedad a través de la identificación de los anticuerpos anti-gliadina (AGA) ¹⁰ y anti-reticulina ¹¹, por lo que se empieza a considerar a la EC como una enfermedad autoinmune.

Por qué algunas personas desarrollaban la enfermedad y otras no era uno de los principales interrogantes sobre esta patología. En este contexto y con la observación de varios casos en una misma familia, se entrevió el origen genético de la enfermedad. En 1972 se descubrió la asociación de la EC con los antígenos leucocitarios humanos (HLA) de manera simultánea en Gran Bretaña ¹² y en EE. UU. ¹³.

La determinación de los AGA fue muy importante para el diagnóstico de la EC, pero su relevancia fue disminuyendo por su baja especificidad y el descubrimiento de los anticuerpos anti-endomisio (EMA) en 1983 ¹⁴. Sin embargo, no fue hasta 1997, de la mano de Dieterich ¹⁵, cuando se conoce el antígeno principal frente al que reaccionan los EMA: la enzima transglutaminasa tisular tipo 2 (TG2). Esto implicó un importante avance, puesto que solucionó los inconvenientes que planteaba la realización del EMA, al empezarse a utilizar la técnica de ELISA (acrónimo del inglés *Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay* - Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas) para detectar los anticuerpos anti-TG2 (a-TG2). Años después aparecieron los herederos de los AGA, los anticuerpos anti-péptidos deamidados de gliadina (a-PDG), a través del descubrimiento de la deamidación de la gliadina producida por la TG2 ^{16, 17}.

Ante la falta de homogeneidad en la valoración de la EC, la ESPGHAN (*European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition*) en 1969 publicó los primeros criterios diagnósticos de la enfermedad ¹⁸, que posteriormente fueron revisados en 1979 ¹⁹, 1990 ²⁰ y 2012 ²¹.

2. Definición y epidemiología

La definición de la EC ha ido cambiando con el paso del tiempo a medida que se han obtenido nuevos conocimientos sobre la misma. Actualmente se define como un desorden crónico sistémico inmuno-mediado, desencadenado por la ingesta de alimentos que contienen gluten y proteínas relacionadas presentes en trigo, cebada y centeno. Afecta a niños y adultos genéticamente predispuestos y se caracteriza por la presencia de una combinación variable de manifestaciones clínicas dependientes del gluten, presencia de anticuerpos específicos, haplotipos HLA-DQ2 y/o HLA-DQ8 y enteropatía ^{21, 22}.

Al igual que en otras enfermedades autoinmunes, la EC es más frecuente en mujeres que en hombres, con un *ratio* 2:1 ^{23, 24}; sin embargo, esta diferencia se empieza a igualar en la edad adulta ²⁵.

Con respecto a los datos epidemiológicos, la celiaquía presenta una prevalencia del 1% en la población general ²⁶⁻²⁹, con algunas diferencias entre países. En la Figura 2 se muestran los datos de prevalencia a nivel mundial ³⁰.

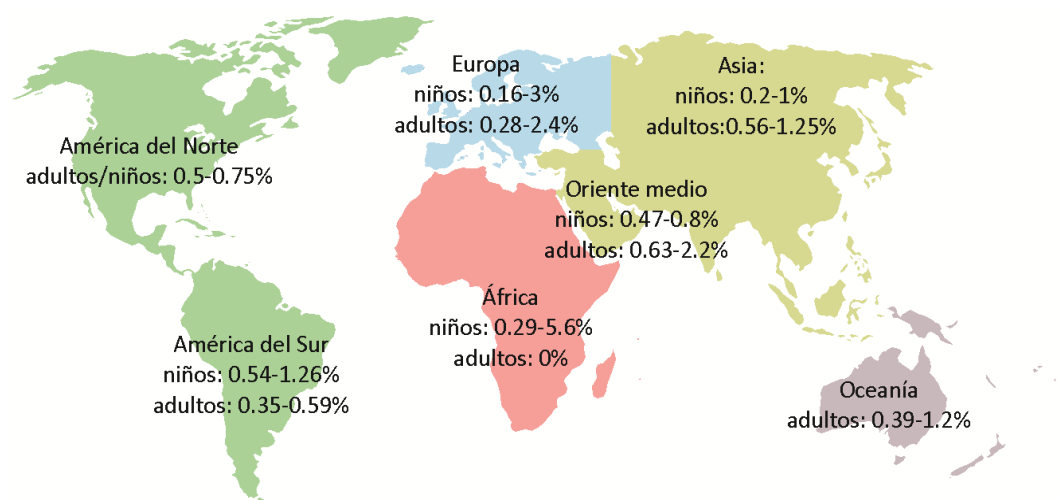


Figura 2. Prevalencia mundial de la EC.

En España, desde el año 2000 se han realizado varios estudios de prevalencia en diferentes Comunidades Autónomas y con diferentes metodologías. Aunque no han sido estudios poblacionales amplios, dan una idea aproximada sobre la frecuencia de la enfermedad en nuestro país (Tabla 1).

Tabla 1. Prevalencia de la EC en España.

Población	Año	Comunidad	Prevalencia (%)		Referencias
Infantil	2002	Madrid	1:220	0,45%	Cilleruelo <i>et al.</i> ³¹
	2004	País Vasco	1:118	0,85%	Castaño <i>et al.</i> ³²
	2011	Cataluña	1:71	1,4%	Mariné <i>et al.</i> ³³
Adulta	2000	Asturias	1:389	0,25%	Riestra <i>et al.</i> ³⁴
	2007	Madrid	1:370	0,27%	García-Novo <i>et al.</i> ³⁵
	2011	Cataluña	1:357	0,28%	Mariné <i>et al.</i> ³³

La prevalencia en la población adulta no ha variado con el paso del tiempo, presentando valores similares, en torno al 0,27%, en los estudios disponibles. Sin embargo, en la población infantil los tres estudios realizados ofrecen resultados bastante diversos, aunque presentan diferencias en la metodología empleada y en la población específica estudiada. El primero se realizó en escolares de 10-12 años de edad, el segundo en recién nacidos que fueron evaluados posteriormente al año y medio, y el último utilizó una amplia población que comprendía varias edades (1-14 años). Una de las conclusiones llevadas a cabo por el último grupo fue que a medida que la población va creciendo la prevalencia de la enfermedad disminuye, observándose una mayor prevalencia a menor edad. Esto explica las diferencias entre los tres estudios citados y sitúa en algo más del 1% la prevalencia en los niños más pequeños.

Con respecto a los datos de incidencia, en España se realizó un estudio prospectivo, observacional, multicéntrico, de registro nacional de casos nuevos de celiaquía en niños durante el periodo de Junio-2006 a Mayo-2007 (estudio REPAC) ³⁶, en el que se describió una incidencia de 54/100.000 individuos/año.

3. Etiología

La EC es una enfermedad compleja y representa una entidad particular de autoinmunidad puesto que, contrariamente a otras enfermedades autoinmunes, se conocen los principales factores que intervienen en su desarrollo: genéticos (HLA) y ambientales (gluten) ³⁷.

3.1. Factores ambientales

3.1.1. *Gluten*

El término gluten engloba un conjunto de proteínas que constituyen la base del pan y muchos alimentos. Se obtiene a partir del trigo tras la eliminación de componentes solubles (almidón) en agua y comprende principalmente dos proteínas: gliadina y glutenina. El trigo, la cebada y el centeno, son cereales relacionados entre sí que pertenecen a la misma subfamilia, compartiendo proteínas con alta homología. Las proteínas de la cebada y el centeno se conocen como hordeínas y secalinas, respectivamente, y junto con la gliadina y glutenina se denominan “prolaminas”, adquiriendo ese nombre por su alto contenido en glutamina y prolina. Este último aminoácido es el que hace que las prolaminas sean notablemente resistentes a la proteólisis enzimática luminal, generando grandes fragmentos que permanecen intactos y con gran contenido en estos aminoácidos ³⁸. En cuanto a la avena no hay unanimidad al respecto; ésta presenta menor contenido de prolaminas en referencia a los otros cereales, por lo que se desaconseja su consumo por la probabilidad de efectos a largo plazo, aunque su consumo no induce la producción de anticuerpos frente a la TG2 en la mayoría de niños celíacos ^{39, 40}.

3.1.2. *Otros factores ambientales*

Actualmente el gluten es considerado el factor ambiental por excelencia, puesto que no hay EC sin gluten. Sin embargo, sólo un número pequeño de individuos genéticamente predispuestos desarrollan la enfermedad. No existe una explicación clara frente a este hecho, pero parece que pueden existir otros factores ambientales

involucrados en la etiología de la EC, aunque por ahora no se conoce ninguno claramente asociado.

La mayoría de los estudios actuales se centran en la microbiota intestinal, dado su importante papel en el desarrollo normal del sistema inmune y la homeostasis. La interacción existente entre la microbiota y el huésped en la patogénesis de enfermedades no se conoce completamente, pero existen numerosas causas que pueden modificarla y por lo tanto alterar el equilibrio entre ésta y el sistema inmune ⁴¹. También existe evidencia de que las infecciones gastrointestinales conducen a una lesión intestinal con afectación de la respuesta inmune local, a través del aumento de la permeabilidad intestinal con potenciación de la captación y la respuesta inmune disfuncional anti-gliadina, que en un individuo genéticamente susceptible llevaría a un aumento del riesgo a padecer EC ⁴²⁻⁴⁴. Por otro lado, las infecciones gastrointestinales también implican cambios en la microbiota.

Durante muchos años la lactancia materna y el modo de introducción del gluten en la dieta se consideraron factores influyentes en el riesgo a desarrollar EC. Sin embargo, recientemente tres estudios multicéntricos, CELIPREV ⁴⁵, PreventCD ⁴⁶ y TEDDY ⁴⁷, revelaron que el momento de introducción del gluten y la cantidad no parecen influir en el riesgo a desarrollar EC, al igual que no lo hace la duración de la lactancia materna, aunque sí parece que la lactancia puede retrasar el momento de aparición de la enfermedad.

El papel de los diferentes factores ambientales parece adquirir cada vez más relevancia, aunque todavía su relación con la EC siga siendo difícil de determinar.

3.2. Genética

La EC se caracteriza por presentar un fuerte componente genético con elevada heredabilidad, que quedó demostrada por medio de estudios de concordancia entre gemelos, indicando una concordancia de aproximadamente 80% entre gemelos monozigóticos y 20% entre dizigóticos ⁴⁸; y por medio de estudios de agregación familiar, que utilizan el riesgo relativo entre hermanos (indican el riesgo a sufrir una enfermedad en hermanos de individuos afectados con respecto a la población general), siendo en EC de 20-60 ⁴⁹⁻⁵¹.

La EC es una enfermedad poligénica que presenta un patrón de herencia no mendeliana complejo, con la participación de genes HLA y genes no-HLA, situados en distintos loci del genoma, y que de manera conjunta proporcionan el riesgo a desarrollar la enfermedad.

3.2.1. Genes HLA

La asociación genética más fuerte con el riesgo a presentar EC se debe a la presencia de variantes específicas presentes en el HLA. Los genes HLA se localizan en el brazo corto del cromosoma 6, región que se caracteriza por contener numerosos genes que codifican proteínas relacionadas con el sistema inmune (Figura 3).

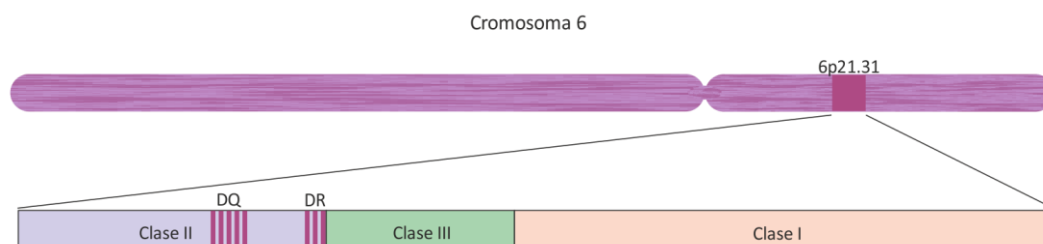


Figura 3. Localización de los genes HLA en el cromosoma 6.

El complejo se divide en tres regiones: I, II, y III. Cada región contiene numerosos genes, sólo se representan los genes *HLA-DQ* y *HLA-DR* de la clase II.

Estos genes se clasifican en clase I, II y III. Dentro de la clase II se encuentran los genes *HLA-DQA1* y *HLA-DQB1*, que codifican las subunidades α y β , respectivamente, de los receptores HLA-DQ presentes en las células presentadoras de antígenos (CPAs) que se encargan de la presentación antigénica a los linfocitos T (LT), iniciando así la respuesta inmune adaptativa⁵². Los alelos que codifican la molécula HLA-DQ2 son los que confieren el riesgo genético. Esta molécula está codificada por los alelos *HLA-DQA1*05* y *HLA-DQB1*02*, que pueden heredarse en *cis* (de un único progenitor y por tanto localizadas en el mismo cromosoma, por lo general conteniendo *DRB1*03*) o en *trans* (cada alelo procedente de un progenitor diferente y por tanto localizado en un cromosoma homólogo diferente, generalmente el alelo *DQA1*05* en un cromosoma conteniendo *DRB1*11*, *DRB1*12* o *DRB1*13* y el alelo *DQB1*02* en un cromosoma con *DRB1*07*)^{53, 54}. Más del 90% de los individuos celíacos de ascendencia europea presentan la molécula HLA-DQ2, pero también es bastante frecuente la población caucásica europea general, apareciendo aproximadamente en el 30% de la población sana^{55, 56}. El 8-10% restante de pacientes celíacos presentan, en su mayoría, la molécula HLA-DQ8, codificada por la combinación alélica *DQA1*03* y *DQB1*03:02* en *cis* (por lo general conteniendo *DRB1*04*)⁵⁷⁻⁵⁹ (Figura 4).

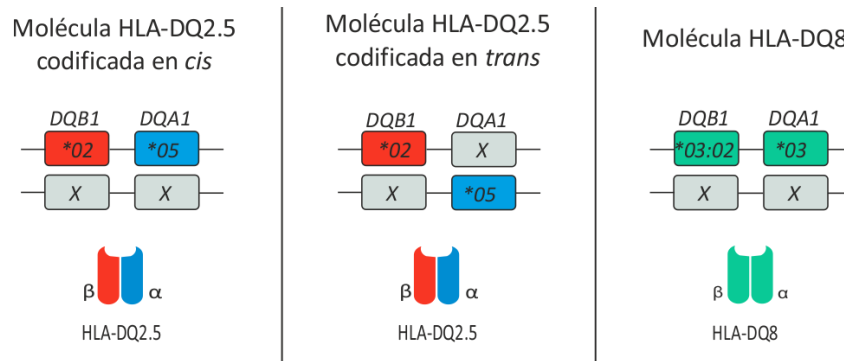


Figura 4. Representación de los genes y las moléculas HLA-DQ asociadas con la EC.

Los pacientes celíacos que no son portadores de los haplotipos de susceptibilidad más frecuentes, presentan una sola cadena del heterodímero DQ2: *DQA1**05 (DQ7.5) o, más frecuentemente, *DQB1**02 (DQ2.2)^{54, 60-62}, y sólo un muy pequeño porcentaje de individuos celíacos no presenta ningún alelo asociado con la enfermedad^{61, 62}.

Existe además un efecto de dosis génica que se debe a la presencia de dos copias del alelo *DQB1**02, más que al alelo *DQA1**05⁶³. Esto trae aparejado un incremento en la susceptibilidad a padecer EC con inicio en edades más tempranas⁶³⁻⁶⁶. Los diferentes niveles de riesgo para padecer la enfermedad se muestran en la Figura 5. Las moléculas HLA-DQ asociadas con la enfermedad, DQ2 con sus variantes (DQ2.5 y DQ2.2) y DQ8, parecen unirse a diferentes péptidos, los cuales pueden presentar distinta inmunogenicidad. Además, la estabilidad de la unión de estos péptidos a los receptores HLA-DQ puede ser diferente. Esto determina los distintos niveles de riesgo dependiendo de la genética de cada individuo.

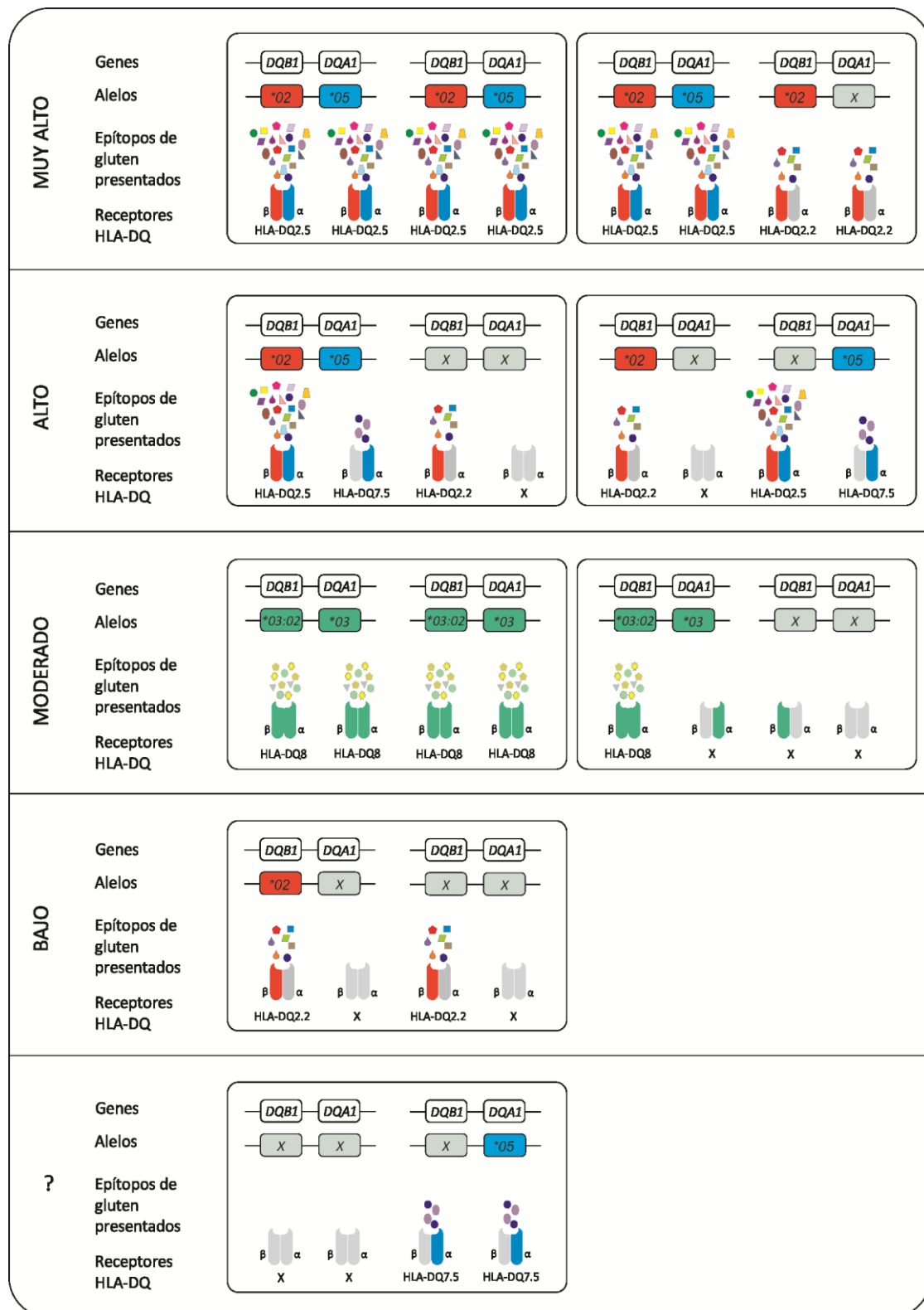


Figura 5. Diferentes niveles de riesgo basados en la dosis génica HLA.

La molécula HLA-DQ2.5 puede unirse a un gran repertorio de péptidos de gluten inmunodominantes. En cambio, las moléculas HLA-DQ8 y -DQ2.2, tienen un criterio de selección diferente y se unen a péptidos menos inmunogénicos.

El HLA es claramente un factor importante en la susceptibilidad a desarrollar EC, puesto que casi la totalidad de los enfermos son HLA-DQ2/DQ8, lo que sugiere que estas moléculas HLA de clase II constituyen una condición necesaria para desarrollar la enfermedad. Sin embargo, no son suficientes, puesto que la mayoría de los individuos con los haplotipos de riesgo no desarrollan la enfermedad.

3.2.2. Otros genes asociados

Los estudios de asociación de barrido genómico (GWAS: *genome-wide association studies*) han supuesto un paso fundamental en el descubrimiento de las regiones cromosómicas no-HLA asociadas con el desarrollo de la enfermedad, al igual que el proyecto *ImmunoChip*, en el que se han explorado en EC diversas regiones asociadas previamente a otras enfermedades mediadas por el sistema inmune. Estos estudios han descrito 39 regiones cromosómicas asociadas a presentar EC ⁶⁷. La mayoría de estas regiones contienen genes con funciones relacionadas con la respuesta inmunitaria. El año pasado, un estudio de mapeo fino en la región HLA describió 5 nuevas regiones HLA de riesgo ⁶⁸.

A pesar del gran avance en el conocimiento de los factores genéticos, aún no se conoce completamente el rol que cumplen todos los posibles genes candidatos en el desarrollo de la EC y su utilidad clínica es muy limitada. Además estos factores genéticos no-HLA, sólo incrementan en un 6,5% el riesgo genético atribuido a la EC y los nuevos factores HLA suponen un aumento del 25%.

4. Inmuno-patogénesis

En condiciones normales las prolaminas del gluten son resistentes a la proteólisis enzimática luminal, generando grandes péptidos que permanecen intactos y no son fácilmente absorbibles. Se cree que estos péptidos pueden tener dos tipos de efectos: *tóxico* (efecto tóxico directo sobre el epitelio mediado por la inmunidad innata) e *immunogénico* (efecto mediado por el sistema inmune adaptativo) ⁶⁹. Estos fragmentos pueden alcanzar la lámina propia mediante distintos tipos de transporte: transcelular, paracelular y retrotransporte; siendo el paracelular el principal. Los péptidos de gluten resistentes que logran atravesar el epitelio intestinal son deamidados por la enzima TG2 en la lámina propia ⁴⁰, generando péptidos de gluten modificados que se unirán con gran afinidad a las moléculas HLA-DQ2 o -DQ8 expresadas en las CPAs, que presentarán posteriormente a los LT CD4⁺ ^{16, 17, 40}. Como consecuencia se desencadenan una serie de eventos que conducen a la inflamación crónica y, entre otras cosas, a un aumento de linfocitos en el interior del epitelio intestinal (LIEs).

En el epitelio del intestino delgado normalmente se encuentra un 75% de linfocitos CD8⁺ TCRαβ⁺ y un 15% TCRγδ⁺ ⁷⁰, ambos pueden aumentar en número en diferentes patologías pero una característica de la EC activa, es el aumento de LT TCRγδ⁺ con disminución de los LT CD3⁺. En los pacientes con EC, los LIEs tienen un papel importante en la patogénesis de la enfermedad y sufren inactivación y activación de diferentes receptores de superficie que lleva a que se conviertan en células tipo NK capaces de matar a las células epiteliales, contribuyendo al daño epitelial ⁷¹. Una vez

iniciada la DSG y de manera paralela al restablecimiento de la mucosa, los LIEs TCR $\alpha\beta$ ⁺ vuelven a valores normales, pero los LIEs TCR $\gamma\delta$ ⁺ se mantienen elevados durante años^{70, 72}, pudiendo corresponder a una probable inflamación continua de bajo grado de causa desconocida o por consumo involuntario de pequeñas cantidades de gluten⁷³.

La enzima TG2 extracelular es el principal auto-antígeno frente al que se desarrollan los anticuerpos más específicos⁷⁴. La producción de auto-anticuerpos se debe a que los LT CD4⁺ específicos de gluten estimulan a los linfocitos B (LB) a producir anticuerpos frente a la TG2 unida a péptidos de gluten deamidados. A su vez, también se forman anticuerpos frente a péptidos deamidados por la TG2 (PDG). Pero la TG2 también puede catalizar reacciones de transamidación, en las cuales se transfieren residuos de glutamina de una proteína a residuos de lisina de otra proteína. Esta segunda proteína puede ser la propia TG2 y el proceso de deamidación puede ocurrir en gliadina unida a la TG2. Como consecuencia de este entrecruzamiento pueden formarse neoepítomos. Este complejo entero puede ser presentado por moléculas HLA-DQ^{75, 76}. Esto parece que ocurre en condiciones fisiológicas y, por tanto, podrían formarse anticuerpos frente a neoepítomos, además de frente a la TG2 y a péptidos deamidados de gliadina^{77, 78}.

No se ha podido dilucidar el verdadero papel de los auto-anticuerpos en la patogénesis de la enfermedad, actualmente su presencia tiene un papel principalmente diagnóstico. En la Figura 6 se muestra un esquema de estos mecanismos.

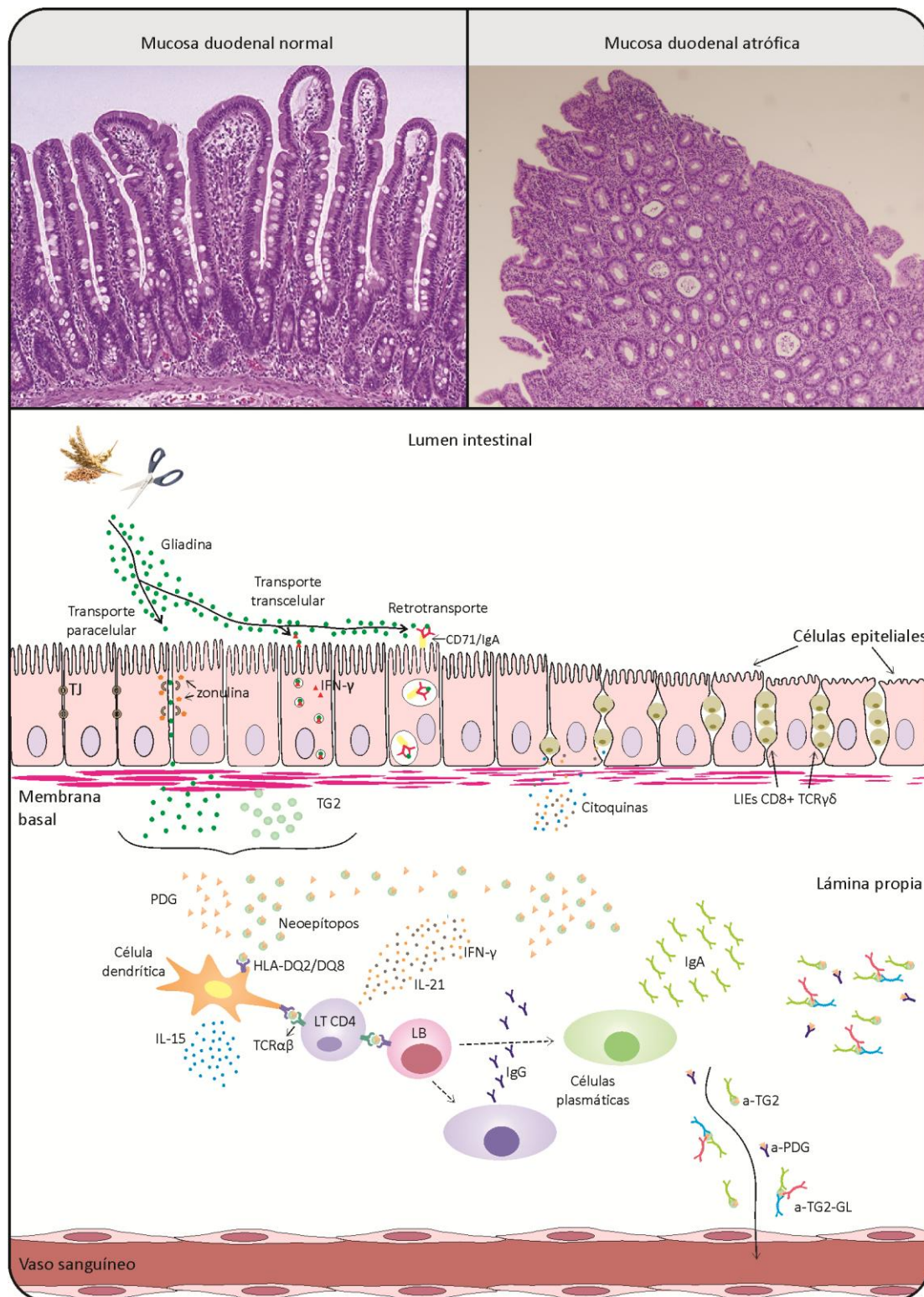


Figura 6. Inmuno-patogénesis de la EC.

TJ, *tight junctions* – uniones estrechas; TG2, enzima transglutaminasa tisular tipo 2; PDG, péptidos deamidados de gliadina; IL, interleuquina; LT, linfocito T; TCR, receptor de LT; LB, linfocito B; IFN- γ , interferón gamma; LIEs: linfocitos intraepiteliales; Ig, inmunoglobulina; a-TG2, anticuerpo anti-transglutaminasa tisular tipo 2; a-PDG, anticuerpo anti-péptido deamidado de gliadina; a-TG2-Gl, anticuerpo anti-TG2 y péptidos modificados de gliadina.

Hay suficientes evidencias que demuestran que la lesión intestinal observada en la EC es el resultado de la interacción de varios componentes: gluten, TG2, moléculas HLA-DQ2/DQ8, el sistema inmune innato y adaptativo, que se interrelacionan y generan el daño tisular. A pesar de los avances en la inmunopatogénesis de la enfermedad, existen aún numerosas dudas por resolver, como por qué un pequeño porcentaje de individuos que presentan las moléculas HLA de riesgo desarrollan la enfermedad y otros no, y también por qué la enfermedad no se manifiesta igual en todos los pacientes. Una posible explicación fue descrita por Koning ⁷⁹ con el “modelo de eventos múltiples”, donde considera que dependiendo de los eventos que tengan lugar, la enfermedad puede ser menos severa o incluso no tener lugar. En la Figura 7 se muestra una interpretación de esta teoría.

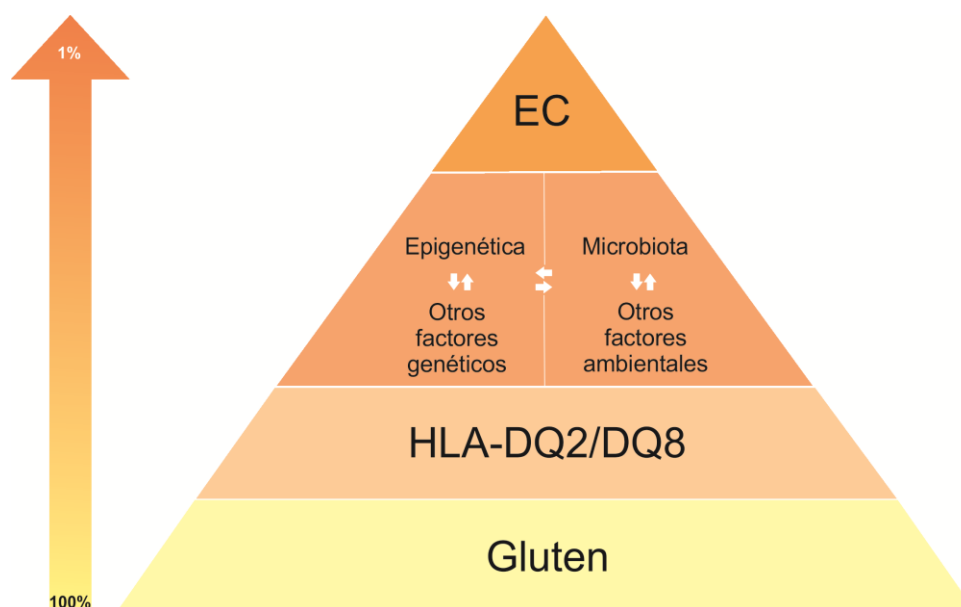


Figura 7. Interpretación de la teoría de eventos múltiples.

El gluten es el desencadenante ambiental por excelencia, la EC no existe sin consumo del mismo. Los receptores HLA-DQ2/DQ8 son factores necesarios, puesto que están implicados en la presentación antigénica. Sin embargo, son necesarios eventos adicionales para el desarrollo de la enfermedad.

5. Clasificación y formas clínicas

A lo largo del tiempo se han propuesto diversas clasificaciones, aunque todavía no hay consenso en cuanto a la definición y clasificación de las diferentes formas clínicas de la enfermedad.

En la población pediátrica, la guía clínica de la ESPGHAN ²¹ constituye una directriz fundamental en la práctica clínica diaria, estableciendo 4 tipos de presentación, definidas como:

- Sintomática:
 - Síntomas y/o signos gastrointestinales.
 - Síntomas y/o signos extraintestinales.
- Silente: presencia de anticuerpos específicos positivos, HLA y biopsia duodenal compatible con EC, pero sin síntomas y/o signos suficientes de sospecha clínica de EC.
- Latente: presencia de HLA compatible sin enteropatía en un paciente que ha tenido en algún momento enteropatía dependiente del gluten. El paciente puede tener o no síntomas y/o signos y puede tener o no anticuerpos específicos.
- Potencial: presencia de anticuerpos específicos positivos y HLA compatible sin alteraciones en la biopsia duodenal. El paciente puede tener o no síntomas y/o signos y puede o no desarrollar más tarde enteropatía dependiente del gluten.

Con respecto a la población adulta, las guías clínicas existentes están principalmente enfocadas al diagnóstico de la enfermedad, no estableciendo la clasificación a utilizar. Esto ha generado controversias en cuanto a la clasificación y definición de las diferentes formas de presentación de la celiaquía en adultos. Es por eso que ante la necesidad de un consenso en este tema, en el año 2011 se realizaron dos encuentros multidisciplinarios: uno en Londres (Inglaterra) ⁸⁰ y otro en Oslo (Noruega) ⁸¹, este último también incluye a la población pediátrica. En ambos estudios se redefinieron conceptos, pasando la EC a formar parte de un grupo de enfermedades denominadas *gluten-related disorders* (trastornos relacionados con el gluten), considerándose a éste como el término general para referirse a las condiciones relacionadas con la ingesta del gluten. En el primer estudio, Sapone A. *et al.* ⁸⁰, realizaron una clasificación de acuerdo a la patogenia de cada enfermedad relacionada con el gluten: autoinmune, que incluye: EC, dermatitis herpetiforme y ataxia por gluten; alérgica; y por último, no autoinmune – no alérgica, que correspondería a la sensibilidad al gluten no celíaca (SGNC), definida como una entidad aparte. Las formas de presentación de la EC quedarían simplificadas en tres tipos: sintomática (clásica: síntomas y/o signos gastrointestinales; y no clásica: síntomas y/o signos extraintestinales), silente (descubierta por cribado serológico) y potencial (presencia de anticuerpos específicos positivos sin alteraciones en la mucosa duodenal).

En el segundo estudio, realizado por Ludvigsson J. *et al.* ⁸¹, se focalizaron principalmente en la redefinición de criterios. Aconsejaron emplear las siguientes formas de presentación: sintomática (clínica gastrointestinal y/o extraintestinal), que se divide en clásica (síntomas y/o signos de malabsorción) y no clásica (sin síntomas

y/o signos de malabsorción); asintomática, subclínica (enfermedad por debajo del umbral de detección clínica sin signos o síntomas suficientes para solicitar pruebas específicas), potencial (presencia de anticuerpos específicos positivos sin alteraciones en la mucosa duodenal), refractaria (persistencia de síntomas y/o signos de malabsorción con atrofia vellositaria a pesar de 12 meses de DSG estricta). Además también incluyen la SGNC, caracterizada por la presencia de manifestaciones clínicas precipitadas por la ingesta de gluten en pacientes en los que se ha excluido la EC. Los términos desaconsejados son: EC típica, EC atípica, silente, latente, intolerancia al gluten y sensibilidad al gluten.

A pesar de las guías clínicas y los últimos artículos publicados, la confusión en cuanto a la definición de términos y clasificación continúa; sin embargo, el término de “trastornos relacionados con el gluten” parece ser aceptado por la mayoría. En la Figura 8 se muestra una adaptación propia de las clasificaciones y formas de presentación propuestas.

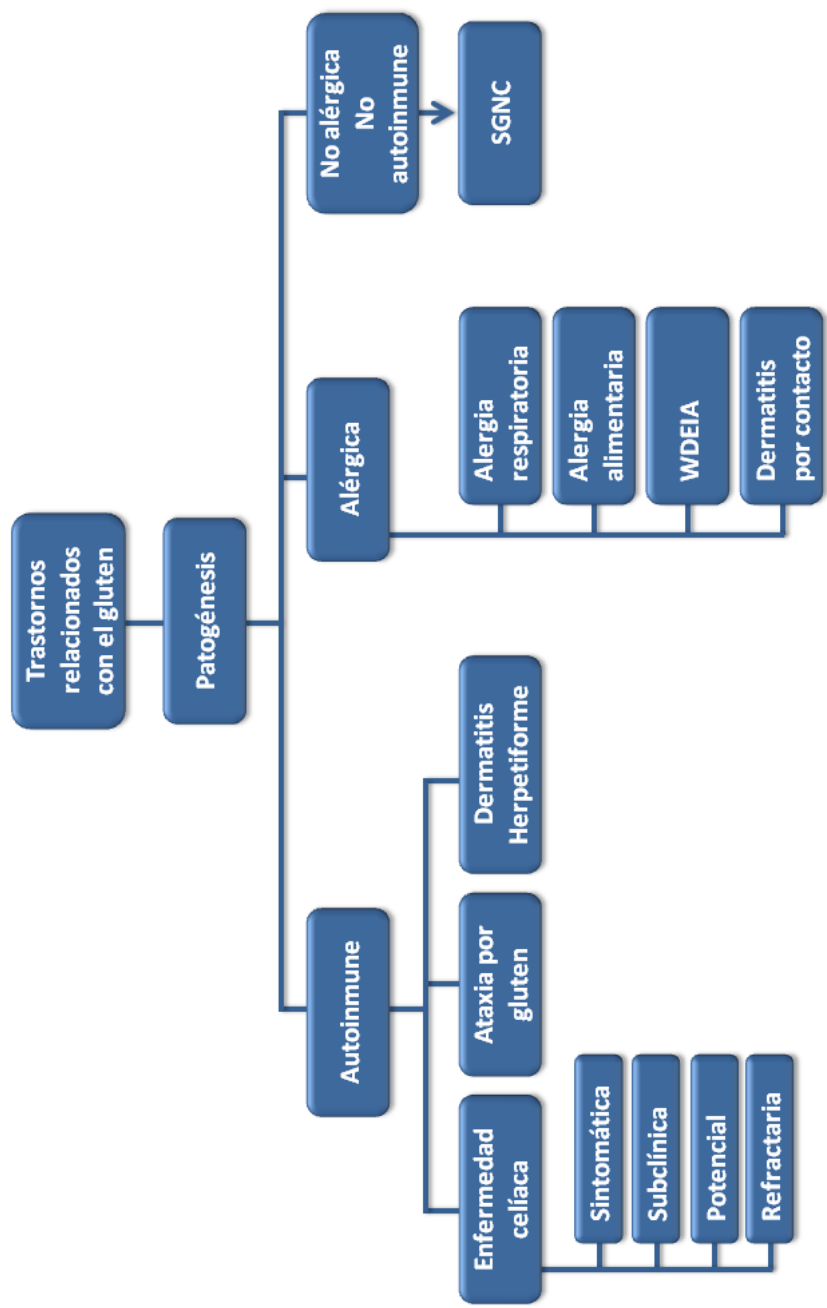


Figura 8. Clasificación de los trastornos relacionados con el gluten. De acuerdo al último estudio publicado, quedaría desestimado el término de EC silente, aunque en las anteriores publicaciones todavía figure como una de las formas de la EC. WDEIA, anafilaxia gluten dependiente inducida por el ejercicio. SGNC, sensibilidad al gluten no celíaca.

6. Manifestaciones clínicas

La EC se desarrolla posteriormente a la introducción del gluten en la dieta. El inicio de las manifestaciones clínicas puede ocurrir en la infancia, adolescencia o en la edad adulta; y con una gran variabilidad en la sintomatología, lo que en ciertas ocasiones puede conducir a un retraso en el diagnóstico.

6.1. Población pediátrica

La forma clásica suele iniciarse entre los 6 – 24 meses de edad, principalmente con síntomas gastrointestinales como diarrea crónica, distensión abdominal, dolor abdominal, hiporexia, poca ganancia de peso o bajo peso y vómitos⁸². Con respecto al dolor abdominal, no está claro aún si es indicativo de EC, puesto que es un síntoma frecuente en la infancia. En la última década se ha visto un cambio en la forma de la presentación clínica, con un aumento en la prevalencia de síntomas no clásicos y formas subclínicas; lo cual podría deberse en parte al mayor conocimiento de la enfermedad^{21, 83}. Una forma actualmente infrecuente de presentación es la “crisis celíaca”, caracterizada por diarrea líquida explosiva, marcada distensión abdominal, deshidratación, desequilibrio hidroelectrolítico, hipotensión y letargo^{82, 84}. En Tabla 2 se muestra el espectro clínico en niños celíacos.

Tabla 2. Espectro clínico de la EC en la población pediátrica.

Síntomas/signos clásicos	Síntomas/signos no clásicos
Distensión abdominal	Artritis
Hiporexia	Estomatitis aftosa
Diarrea, meteorismo	Estreñimiento
Alteración ritmo intestinal	Defectos en esmalte dental
Retraso del desarrollo	Hipertransaminasemia
Vómitos	Anemia ferropénica
Pérdida de peso	Fatiga crónica
Irritabilidad	Retraso de la pubertad
Estancamiento ponderoestatural	Dolor abdominal

6.2. Población adulta

Durante muchos años la EC se consideró una enfermedad casi exclusiva de la población pediátrica, pero actualmente se sabe que también puede afectar a adultos de cualquier edad. Inicialmente, la diarrea era el síntoma más prevalente en el momento del diagnóstico, pero gracias al avance en el conocimiento de la enfermedad y a la realización de cribados serológicos, la frecuencia de este síntoma ha ido disminuyendo significativamente, observándose un incremento de las presentaciones no clásicas y subclínicas ^{85, 86}. En la Tabla 3 se nombran los principales síntomas y signos asociados con la enfermedad en la población adulta ⁸⁵⁻⁸⁷. Algunas de las manifestaciones son consecuencia de la malabsorción de nutrientes, como es el caso de la anemia (generalmente microcítica y ferropénica), sin embargo hay otras manifestaciones en las que se desconoce con exactitud el mecanismo por el cual se producen, como sería el caso de la afectación hepática o la infertilidad.

Tabla 3. Espectro clínico de la EC en la población adulta.

Manifestaciones gastrointestinales	Manifestaciones extraintestinales	
• Diarrea	Hematológicas:	Neuro-psiquiátricas:
• Dolor abdominal	• Anemia ferropénica	• Ataxia
• Flatulencia	• Anemia por déficits (ácido fólico, vitamina B12)	• Epilepsia
• Distensión abdominal	• Déficits de factores de la coagulación	• Cefalea
• Estreñimiento	Hepáticas:	• Ansiedad o depresión
• Dispepsia	• Elevación de transaminasas	Orales:
	Reumatológicas:	• Aftas
	• Artritis	Síntomas constitucionales:
	• Osteoporosis	• Astenia
	Ginecológicos:	• Pérdida de peso
	• Infertilidad	
	• Abortos	

6.3. Condiciones asociadas

Existen ciertas situaciones asociadas con mayor riesgo a desarrollar EC, como presentar un familiar de primer grado afectado por la enfermedad (10-15%)^{88, 89}. Además, existen patologías o síndromes que también se consideran asociadas a la EC, puesto que en ellas la prevalencia de la enfermedad es mayor que en la población general, estas condiciones son similares para ambas poblaciones, como la diabetes tipo 1 (DM1) (3-16%)⁹⁰, enfermedad tiroidea autoinmune (1,5-6,7%)^{91, 92}, síndrome de

Down (5%)⁹³, síndrome de Turner (3%)⁹⁴ y déficit selectivo de inmunoglobulina (Ig) A (DIgA) (8,7%)⁹⁵, entre otros. En la Tabla 4 se muestran las condiciones asociadas más frecuentemente a la EC; el autismo no ha sido incluido en la tabla porque aún hay cierta controversia al respecto⁸².

Tabla 4. Condiciones asociadas a la EC en niños y adultos.

Enfermedades		Síndromes genéticos
Enfermedades Autoinmunes	Enfermedades Neurológicas y Psicológicas	Síndrome de Down
• Diabetes tipo 1	• Ataxia	Síndrome de Turner
• Enfermedad tiroidea autoinmune	• Depresión	Síndrome de Williams
• Síndrome de Sjögren	• Epilepsia con calcificaciones intracraneales	
• Dermatitis herpetiforme	DIgA	
• Hepatitis autoinmune	Nefropatía IgA	
• Artritis crónica juvenil	Osteopenia / Osteoporosis	
• Artritis reumatoide	Infertilidad	
• Enfermedad Inflamatoria intestinal		
• Miocarditis autoinmune		

DIgA, déficit selectivo de IgA. IgA, inmunoglobulina A.

7. Diagnóstico

El diagnóstico de la EC actualmente está basado en la presencia de ciertos criterios, entre los que se encuentran la sospecha clínica, la presencia de auto-anticuerpos específicos de la enfermedad, genética HLA de riesgo y la confirmación histológica. La concordancia de estos criterios permite generalmente llegar a un diagnóstico final (Figura 9), aunque en ciertas ocasiones éste no es tan evidente.

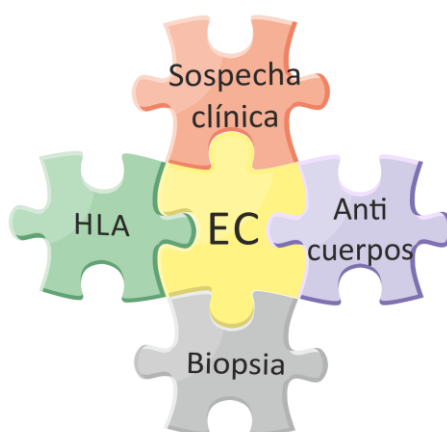


Figura 9. Diagnóstico de la EC.

7.1. Anticuerpos

Los auto-anticuerpos son los únicos biomarcadores aceptados globalmente que se utilizan para el cribado diagnóstico. El primer anticuerpo utilizado para el diagnóstico fue el anti-gliadina (AGA) ¹⁰, conocido desde los años sesenta, y le siguió el anticuerpo anti-reticulina ¹¹; ambos presentaban una baja especificidad y quedaron en desuso ante el descubrimiento del principal auto-antígeno: la enzima TG2. A

continuación se describen los auto-anticuerpos que actualmente se utilizan para el diagnóstico y seguimiento de la enfermedad.

7.1.1. Anti-endomisio

El EMA es el auto-anticuerpo con mayor especificidad descrita para el estudio de la celiaquía, casi del 100%, con una sensibilidad del 93-96% y un valor predictivo positivo (VPP) del 100%⁹⁶⁻⁹⁹. Fue descubierto por Chorzelski *et al.* en suero de pacientes con dermatitis herpetiforme y EC, por medio de la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI) en porta-objetos con cortes de esófago de mono a una dilución 1:5¹⁰⁰ (Figura 10). Actualmente también se puede observar en porta-objetos con cortes de cordón umbilical humano. El endomisio es la estructura que rodea a las fibras musculares, está compuesta por colágeno y reticulina y contiene al antígeno principal: la enzima TG2. Se pueden producir anticuerpos de tipo IgG e IgA, este último es el que se utiliza principalmente para el diagnóstico, utilizándose IgG sólo en caso de pacientes con DIgA.

Este auto-anticuerpo cumple un importante papel en el diagnóstico de la enfermedad debido a su elevada especificidad, utilizándose sólo como confirmación ante la positividad de los anticuerpos a-TG2. Tiene la ventaja de que no se han encontrado falsos positivos en pacientes con otras enfermedades del aparato digestivo ni autoinmunes¹⁰¹. Sin embargo también tiene sus limitaciones, puesto que la IFI es una técnica semi-automatizada, requiriendo personal cualificado para su correcta interpretación y en ocasiones pueden informarse resultados erróneos, principalmente falsos positivos, hasta un 10% en algunos laboratorios¹⁰². Los resultados pueden

informarse de manera cualitativa o semi-cuantitativa con la titulación. Es importante tener en cuenta que con la aparición de casos atípicos como los pacientes seronegativos, la sensibilidad que mostraba al inicio ha ido disminuyendo.

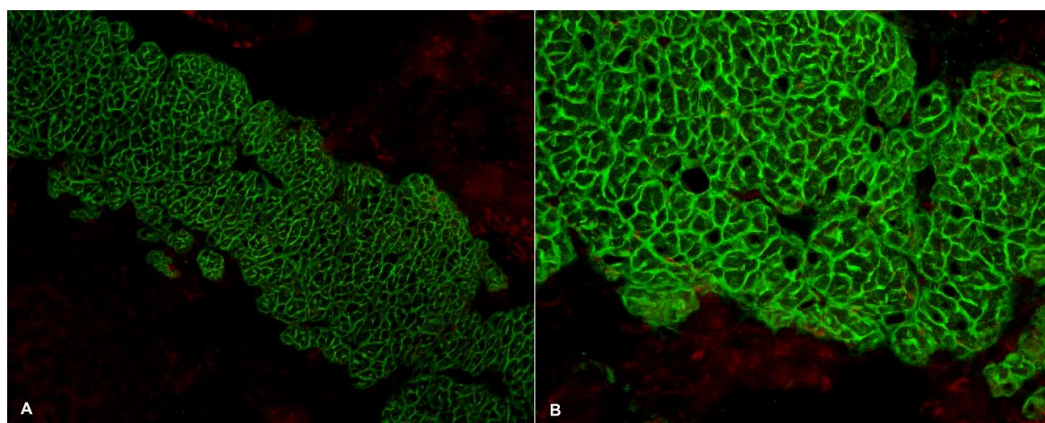


Figura 10. Endomisio positivo en porta-objeto con corte de esófago de mono.

A: (20x) se observa la tinción de la muscular de la mucosa como una red de fibras que rodean las células del músculo liso. B: (40x) se observa la tinción de la sustancia intercelular de las fibras musculares (endomysio).

7.1.2. Anti-transglutaminasa tisular tipo 2

Con el descubrimiento de la TG2 como el antígeno principal ¹⁵ se solucionaron los inconvenientes que planteaba la realización del EMA, comenzando a utilizarse los anticuerpos dirigidos frente a la TG2 (a-TG2) como la determinación principal para el cribado serológico. La técnica más frecuentemente utilizada es el ELISA. La baja sensibilidad y especificidad que mostraba este anticuerpo en sus inicios fueron mejoradas tras el cambio de antígenos, comenzando a utilizar antígenos humanos en lugar de los de cobaya. Las cifras de sensibilidad y especificidad de los a-TG2 IgA,

actualmente se encuentran en torno a 97% y el VPP y el valor predictivo negativo (VPN) corresponden a 85-90% y 90-95%, respectivamente^{97, 98, 103}.

Es importante tener presente que existen ciertas enfermedades que se han asociado con autoinmunidad celíaca, es decir, aparición de a-TG2 sin presentar EC, y por tanto a falsos positivos de a-TG2, entre ellas se encuentran las enfermedades hepáticas (cirrosis biliar primaria, cirrosis hepática, hepatitis crónica por virus B) en donde parece estar en relación a la elevada concentración de Igs en sangre¹⁰⁴⁻¹⁰⁸, la enfermedad inflamatoria intestinal¹⁰⁴, enfermedades del tejido conectivo¹⁰⁵ y la enfermedad tiroidea autoinmune, aunque si bien la EC frecuentemente ocurre de manera concomitante con esta entidad, también se han publicado casos de falsos positivos en estos pacientes, aunque con baja frecuencia^{92, 109}. Es por eso que ante la positividad de a-TG2, ésta se debe confirmar con la realización del EMA IgA, la combinación de ambos anticuerpos es lo que mejor predice la enfermedad¹¹⁰. Si bien la concordancia entre ambos auto-anticuerpos debería ser exacta, esto no siempre ocurre; encontrándose pacientes con resultados positivos para la a-TG2 y negativos para el EMA y algún caso en que sólo el EMA es positivo¹¹¹. Es importante tener en cuenta que ante la positividad de algún anticuerpo con mucosa normal, podemos estar ante un caso de EC potencial o estadios tempranos de la enfermedad donde todavía no hay daño en la mucosa intestinal¹¹², lo que no se consideraría un falso positivo.

Diversos estudios han demostrado una relación entre este anticuerpo y el daño histológico¹¹³⁻¹¹⁵, planteándose en las nuevas guías de niños y adolescentes que ante niveles elevados de a-TG2 se puede evitar la biopsia.

Recientemente se han desarrollado los test POC (*point-of-care / contact – punto de contacto*), son test rápidos que tendrían la ventaja de que podrían realizarse en la propia consulta del médico. Sin embargo, a pesar de que parecen mostrar buenos resultados de sensibilidad y especificidad, la correlación a-TG2/EMA con los test convencionales continúa siendo superior para el diagnóstico ¹¹⁰ y estos anticuerpos deben ser testados en un laboratorio ante la positividad del test POC.

7.1.3. Anti-transglutaminasa tisular + anti-péptidos de gliadina

Algunos kits comercializados como anti-TG2, corresponden a kits de ELISA que incluyen como antígenos TG2 y péptidos de gliadina (a-TG2-GL). Por ello, se cree que pueden detectar anticuerpos frente a la TG2, frente a péptidos derivados del gluten y frente a neoepítomos (Figura 11). Estos neoepítomos procederían del entrecruzamiento de la TG2 con péptidos de gliadina, y parece que se forman de manera fisiológica ^{75, 76}. Se ha descrito una elevada sensibilidad y especificidad de este anticuerpo en pacientes celíacos adultos ¹¹⁶ y en pacientes con dermatitis herpetiforme ¹¹⁷, planteándolos como los anticuerpos de cribado de primera línea al presentar una especificidad del 95% y una sensibilidad del 100% ^{103, 118, 119}. Sin embargo, no existen estudios suficientes que demuestren la utilidad diagnóstica de este anticuerpo o superioridad frente a los anteriores.

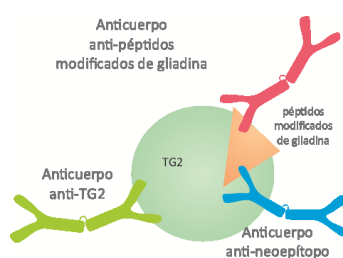


Figura 11. Imagen del complejo de péptidos modificados de gliadina-TG2.
Adaptada de Matthias *et al* ⁷⁷.

7.1.4. Anti-péptido deamidado de gliadina

Son anticuerpos que están dirigidos frente a PDG, que se generan tras la deamidación producida por la TG2 ^{16, 17}. Corresponden a los últimos anticuerpos encontrados y aceptados en relación con la celiacía, se consideran los sucesores de los AGA, con mejores cifras de sensibilidad y especificidad con respecto a estos ¹²⁰, aunque inferiores a las de la a-TG2 y EMA. Se ha demostrado su utilidad en diferentes estudios, evidenciándose que pueden identificar pacientes celíacos que son negativos para los otros anticuerpos sin presentar DIgA. Además se comprobó que los a-PDG IgG tienen mejor comportamiento que los de tipo IgA, por lo que la combinación de los anticuerpos: a-TG2 IgA y a-PDG IgG elevaría la precisión diagnóstica ^{121, 122}. Es a partir de esta premisa que se recomienda que formen parte del cribado serológico rutinario pudiendo hacer innecesaria, según algunos autores, la cuantificación de IgA y poder detectar así casos de pacientes con DIgA ¹²³⁻¹²⁵, donde la confirmación de la positividad del anticuerpo a-PDG se realizaría con el EMA pero de tipo IgG. A pesar de eso las guías clínicas continúan recomendando la cuantificación de IgA. Si bien inicialmente estos anticuerpos se asociaron con una mayor especificidad en niños menores de 3 años ¹²⁶,

se ha visto que pueden encontrarse falsos positivos en menores de dos años, que posteriormente los negativizarán sin la realización de una DSG ¹²⁷.

Al igual que para los a-TG2, existen diferentes técnicas para su detección, utilizándose más frecuentemente la técnica de ELISA. También se han desarrollado test POC para estos anticuerpos ¹²⁸, con buena correlación con los métodos convencionales, aunque hacen falta más estudios para validar esta nueva técnica.

A nivel general, la determinación de los auto-anticuerpos tiene ciertas limitaciones, algunas propias del laboratorio y otras externas. Dentro de las primeras, se encuentra la falta de estandarización en torno a la gran cantidad de kits que existen disponibles en el mercado (de diferentes laboratorios comerciales) y que presentan diferentes valores de sensibilidad y especificidad, utilizando diferentes técnicas y unidades de medida e incluso presentando diferentes puntos de corte, lo que puede generar confusión en la población médica al momento de la interpretación de los resultados. Es importante tener en cuenta las limitaciones en torno a esta problemática, recomendándose que cada laboratorio realice sus propios estudios comparativos con el fin de elegir el kit con mayor eficacia y establecer su propio punto de corte. Dentro de las limitaciones externas, el médico no debe olvidar que existen ciertas condiciones asociadas al paciente que pueden alterar los resultados de los anticuerpos, como por ejemplo las deficiencias de Igs, consumo de inmunosupresores o una baja ingesta de gluten. En la Tabla 5 se muestra un resumen de los auto-anticuerpos con sus principales características.

Tabla 5. Principales características de los auto-anticuerpos.

Ac	Clase de Ig	Antígeno / Substrato	Técnica	Ventajas	Desventajas
EMA	A	<ul style="list-style-type: none"> • Esófago de mono • Cordón umbilical humano 	IFI	<ul style="list-style-type: none"> • Elevada especificidad 	<ul style="list-style-type: none"> • Técnica observador dependiente • Resultado cualitativo o semi-cuantitativo
a-TG2	A	<ul style="list-style-type: none"> • TG2 humana • TG2 recombinante humana 	ELISA	<ul style="list-style-type: none"> • Buena correlación con el EMA • Resultados cuantitativos • Buena correlación con el grado de lesión histológica 	<ul style="list-style-type: none"> • FP con otras enfermedades • Variabilidad entre kits • Falta estandarización en valores y unidades
a-PDG	G	<ul style="list-style-type: none"> • Péptidos sintéticos 	ELISA	<ul style="list-style-type: none"> • Resultados cuantitativos • Útil en pacientes con DIgA • En combinación con la TG2 mejoran la precisión diagnóstica 	<ul style="list-style-type: none"> • FP con otras enfermedades • Sensibilidad / Especificidad menor que anteriores • Variabilidad entre kits • Falta estandarización en valores y unidades
a-TG2-GL	A	<ul style="list-style-type: none"> • TG2 recombinante humana + péptidos modificados de gliadina 	ELISA	<ul style="list-style-type: none"> • Detectan a-TG2, anti péptidos modificados de gliadina y neoepítos • Sensibilidad y especificidad similar a a-PDG • Resultados cuantitativos 	<ul style="list-style-type: none"> • FP con otras enfermedades • Faltan estudios

Ac, auto-anticuerpo. Ig, inmunoglobulina. EMA, anticuerpo anti-endomisio. a-TG2, anticuerpo anti-transglutaminasa tisular tipo 2. a-PDG, anticuerpo anti-péptido deamidado de gliadina. a-TG2-GL, anticuerpo anti-TG2 y péptidos modificados de gliadina. FP, falso positivo. DIgA, déficit selectivo de IgA.

7.1.5. Pacientes seronegativos

En algunos individuos, la EC aparece sin la presencia de ningún tipo de auto-anticuerpo relacionado con la EC en suero, habiéndose descartado cualquier déficit de Igs. No existen muchos estudios sobre estos pacientes “seronegativos”, puesto que al no presentar marcadores serológicos su diagnóstico es difícil, dependiendo principalmente de la alta sospecha clínica que tenga su médico, y por lo general sufren gran retraso en el diagnóstico. La prevalencia descrita es variable, observándose una frecuencia de pacientes seronegativos del 11-36% del total de la población celíaca¹²⁹⁻

135

Con respecto a las características de estos pacientes, algunos autores observaron mayor frecuencia en individuos de mayor edad y con predominio de sintomatología gastrointestinal, aunque no existe homogeneidad de los datos en torno a esto. También se observó que generalmente presentan formas avanzadas de la enfermedad, lo que podría estar relacionado con una interpretación incorrecta del caso clínico del individuo en el que el retraso en el diagnóstico conduciría a estadios avanzados de la EC con desarrollo de complicaciones. En estos pacientes, la biopsia, la genética y la respuesta a la DSG constituirían el *gold standard* para el diagnóstico.

7.2. HLA

La EC presenta una fuerte asociación con la región cromosómica HLA, y la gran mayoría de pacientes celíacos presentan los alelos que codifican las moléculas HLA-DQ de riesgo (HLA-DQ2 y/o -DQ8). La relevancia diagnóstica del tipaje HLA se debe a su elevado VPN, es decir, que frente a un resultado negativo para los heterodímeros de

riesgo el individuo se considera que no puede presentar la enfermedad. Este VPN, se estima en torno al 95-100%^{136, 137}. Se recomienda su utilización en la rutina, puesto que proporciona a los médicos un apoyo adicional frente a casos dudosos de EC (Figura 12). El principal inconveniente que presenta es su elevado costo, lo que hace que no se encuentre disponible en todos los laboratorios.



Figura 12. Situaciones en las que se recomienda la realización del tipaje HLA.
a, niños con niveles >10 veces superior al límite normal de a-TG2, EMA positivo y clínica sugerente.

7.3. Biopsia

La biopsia duodenal mediante endoscopia digestiva alta constituye un pilar importante en el diagnóstico de la enfermedad, aunque hay diversos aspectos a tener en cuenta. Las lesiones que se encuentran en la celiaquía se consideran características de la EC pero no son patognomónicas, puesto que también pueden estar presentes en otras patologías no asociadas con la ingesta de gluten. Por otro lado, la afectación de la mucosa puede ser parcheada y puede mostrar diferentes grados de lesión, por ello se

recomienda la toma de varias muestras incluyendo el bulbo duodenal ¹³⁸, debido a que existen pacientes que sólo presentan daño a ese nivel ¹³⁹.

Existen diferentes niveles de lesión intestinal que han sido establecidos dependiendo de la severidad. Actualmente hay dos clasificaciones descritas que pueden utilizarse, la primera corresponde a la clasificación de Marsh-Oberhuber ¹⁴⁰ y la segunda es la de Corazza ¹⁴¹. En la Tabla 6 se describen ambas clasificaciones ⁸¹.

Tabla 6. Descripción de las clasificaciones histopatológicas.

Histopatología	Marsh-Oberhuber	Corazza
Normal	Tipo 0	Normal
Arquitectura normal con aumento de LIEs $\geq 25/100$ enterocitos	Tipo 0	Grado A
Arquitectura normal con aumento de LIEs $\geq 40/100$ enterocitos	Tipo 1	Grado A
Arquitectura normal con aumento de LIEs $\geq 40/100$ enterocitos e hiperplasia de las criptas	Tipo 2	Grado A
Atrofia vellositaria parcial con aumento de LIEs $\geq 25-40/100$ enterocitos	Tipo 3 <ul style="list-style-type: none"> • 3a: atrofia vellositaria parcial, <i>ratio</i> vellosidad:cripta es 1:1 • 3b: atrofia vellositaria subtotal 	Grado B1 (<i>ratio</i> vellosidad:cripta es $<3:1$)
Atrofia vellositaria total con aumento de LIEs $\geq 25-40/100$ enterocitos	Tipo 3c: atrofia vellositaria total	Grado B2 (no se detectan vellosidades)
Lesión atrófica hipoplásica: mucosa plana, altura de criptas normales, no inflamación, recuento normal de LIEs	Tipo 4	No hay equivalente

LIEs, linfocitos intraepiteliales.

7.4. Nuevas herramientas diagnósticas

Ante el incremento de la prevalencia de la EC y de casos atípicos, se han realizado gran variedad de estudios con el objetivo de encontrar nuevos marcadores diagnósticos que sirvan para detectar la amplia gama de pacientes celíacos y facilitar el proceso diagnóstico. Entre ellos se encuentra el linfograma intraepitelial por citometría de flujo, donde se observa, sólo en pacientes celíacos, un aumento permanente de LIEs $\text{TCR}\gamma\delta^+$ (>10%) combinado con un descenso de LIEs CD3^- (<20%)^{142, 143}. Este método presenta una elevada precisión diagnóstica y tiene considerables ventajas con respecto a otros, comenzando por la rapidez en la obtención de los resultados, porque permite la identificación de individuos con afectación parcheada, en los cuales la biopsia puede ser informada erróneamente como normal, e incluso facilita el diagnóstico de pacientes con enteritis linfocítica (Marsh 1) en los que la valoración histológica es difícil, teniendo en cuenta que este grado de lesión puede ser producida por esta enfermedad así como por otras patologías. También se ha descrito que se pueden obtener resultados positivos en pacientes con EC potencial, precediendo así al daño histológico.

Los depósitos de a-TG2 IgA en la mucosa intestinal observados por inmunofluorescencia directa han demostrado ser otra herramienta útil¹⁴⁴, puesto que parece que en algunos pacientes se forman anticuerpos frente a TG2 que no pasan al torrente sanguíneo a niveles suficientes como para ser detectados.

7.5. Guías clínicas

La celiaquía fue considerada durante largo tiempo una enfermedad de niños, lo que llevó a que las sociedades de Pediatría publicaran guías clínicas para su diagnóstico y tratamiento. Actualmente son cuatro las guías clínicas publicadas y vigentes que son consideradas de referencia para la población pediátrica, dependiendo de la región. Éstas son:

- Guía de la ESPGHAN ²¹, publicada por primera vez en el año 1969, posteriormente revisada en los años 1979, 1990 y 2012.
- Guía de la Sociedad Norteamericana de Gastroenterología Pediátrica, Hepatología y Nutrición (NASPGHAN: *North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition*) ⁸², publicada en el año 2004.
- Consenso en EC de la Federación de Sociedades Internacionales de Gastroenterología Pediátrica, Hepatología y Nutrición (FISPGHAN: *Federation of International Societies of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition*) ¹⁴⁵, publicada en el año 2008.
- Guía del Instituto Nacional para la excelencia en el cuidado y en la salud (NICE: *National Institute for Health and Care Excellence*) ¹⁴⁶, publicada en el año 2009.

Todas disponen de recomendaciones a seguir para el diagnóstico de la EC y/o para el manejo del paciente celíaco, basadas en las publicaciones existentes; algunas incluso establecen algoritmos para pacientes sintomáticos y para pacientes en grupos de riesgo.

En Europa se considera de referencia la guía clínica de la ESPGHAN, utilizándose en la práctica clínica diaria. En la Figura 13 y en la Tabla 7 se muestran los algoritmos y el *score* diagnóstico propuestos en esta guía, respectivamente. Los algoritmos diagnósticos difieren ligeramente según se trate de individuos sintomáticos, en cuyo caso el estudio se inicia con el cribado serológico; o individuos asintomáticos para los que el análisis genético constituye la primera prueba de cribado. En cuanto al *score* diagnóstico, éste fue realizado con los objetivos de diagnosticar la enfermedad en la evaluación inicial, simplificar el diagnóstico en individuos con hallazgos obvios y para evitar el sobre-diagnóstico que existe en relación con hallazgos inespecíficos. El *score* tiene en cuenta 4 puntos principales: síntomas, anticuerpos, HLA y biopsia. Para llegar al diagnóstico se debe llegar a 4 puntos como mínimo.

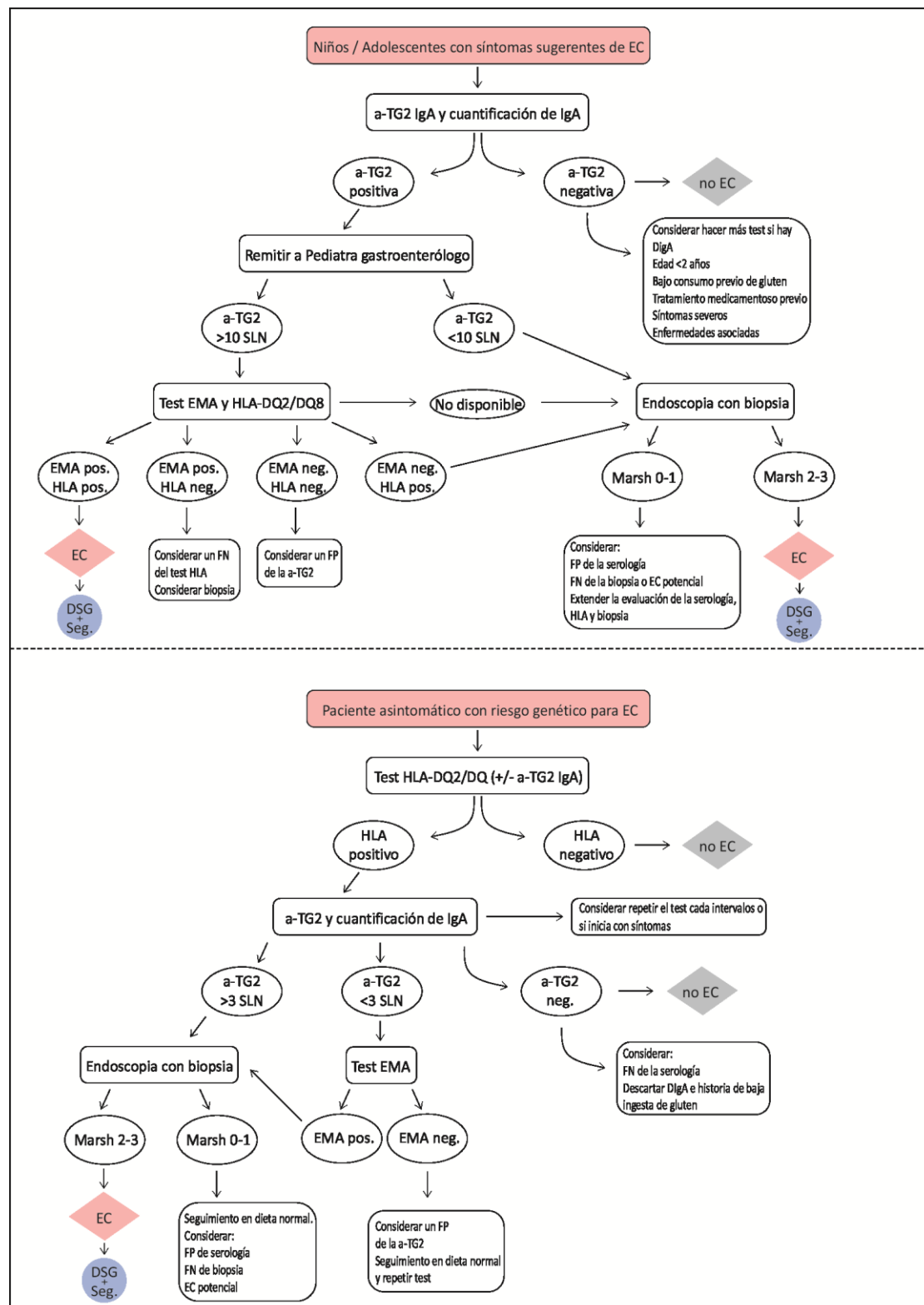


Figura 13. Algoritmos diagnósticos propuestos por la ESPGHAN.

Adaptada de Husby *et al* ²¹. EC, enfermedad celíaca. a-TG2, anticuerpos anti-transglutaminasa tisular tipo 2. IgA, inmunoglobulina A. DlgA, déficit selectivo de IgA. SLN, superior al límite normal. EMA, anticuerpos anti-endomisio. FN, falso negativo. FP, falso positivo. DSG, dieta sin gluten. Seg, seguimiento.

Tabla 7. Score para el diagnóstico de la EC propuesto por la ESPGHAN.

Características	Puntos
Síntomas	
Síndrome de malabsorción	2
Otro síntoma relacionado con la EC o tener un familiar de 1 ^{er} grado afectado	1
Asintomático	0
Anticuerpos séricos*	
EMA positivo y/o a-TG2 positivo a título alto (>10 SLN)	2
a-TG2 positivo a título bajo o a-PDG positivo	1
No se realizó la serología	0
Todos los anticuerpos negativos	-1
HLA	
HLA-DQ2.5 (<i>cis</i> o <i>trans</i>) o HLA-DQ8	1
No se realizó el test HLA o presencia de HLA-DQ2.2	0
HLA no DQ2 ni DQ8	-1
Biopsia	
Marsh 3b o 3c	2
Marsh 2 o 3a o Marsh 0-1 con anticuerpos TG2 intestinales	1
Marsh 0 ó 1 o biopsia no realizada	0

* En DlgA utilizar anticuerpos IgG.

EC, enfermedad celíaca. EMA, anticuerpo anti-endomisio. a-TG2, anticuerpo anti-transglutaminasa tisular tipo 2. a-PDG, anticuerpo anti-péptidos deamidados de gliadina.

Con respecto a la población adulta, también existen varias guías clínicas publicadas en diferentes regiones. Entre ellas se encuentran:

- Guía para el diagnóstico y manejo de la EC de la Asociación Americana de Gastroenterología (AGA: *American Gastroenterological Association*) publicada en el año 2001¹⁴⁷ y posteriormente revisada en el 2006¹⁴⁸.
- Reglas simples para el diagnóstico de la EC, de Carlo Catassi y Alessio Fasano¹⁴⁹, publicadas en el 2010.
- Guía clínica del Colegio Americano de Gastroenterología (ACG: *American College of Gastroenterology*)¹⁵⁰, publicada en el año 2013.
- Guía de la Organización Mundial de Gastroenterología (WGO: *World Gastroenterology Organisation*)²², publicada en el año 2013.
- Guía para el diagnóstico y manejo de la EC de la Sociedad Británica de Gastroenterología (*British Society of Gastroenterology*)¹⁵¹, publicada en el año 2014.

Al igual que para la población pediátrica, todas establecen una serie de recomendaciones a seguir, e incluso algunas plantean algoritmos para el diagnóstico. Si bien las reglas propuestas por Catassi y Fasano¹⁴⁹ no son recomendaciones hechas por un grupo de expertos pertenecientes a alguna sociedad científica, simplifican bastante las reglas generales y son aceptadas y utilizadas en gran medida por la población médica para el diagnóstico de la enfermedad en adultos (Tabla 8), y pueden ser aplicadas en la población pediátrica.

Tabla 8. Reglas diagnósticas propuestas por Catassi y Fasano.

Criterios diagnósticos	Aclaraciones
Síntomas típicos de EC	Diarrea crónica, pérdida de peso, anemia ferropénica. Retraso en el crecimiento (en niños)
Anticuerpos específicos de EC positivos a título alto	IgA a-TG2 y EMA (IgG en DIgA), IgG a-PDG añade evidencia al diagnóstico
Genotipos HLA-DQ2 y/o DQ8	Incluida la variante DQ2.2
Enteropatía compatible con EC en la biopsia intestinal	<ul style="list-style-type: none"> • Marsh 3 • Marsh 1-2 con anticuerpos positivos • Marsh 1-3 con depósitos subepiteliales IgA
Respuesta a la DSG	Respuesta histológica en pacientes seronegativos o con DIgA

EC, enfermedad celíaca. EMA, anticuerpo anti-endomisio. a-TG2, anticuerpo anti-transglutaminasa tisular tipo 2. a-PDG, anticuerpo anti-péptido deamidado de gliadina. IgG, inmunoglobulina G. DIgA, déficit selectivo de IgA. DSG, dieta sin gluten.

Notas:

- 1) El diagnóstico de EC se realizaría ante la presencia de 4 de los 5 criterios, o 3 de 4 cuando el tipaje genético no se haya realizado.
- 2) Historia familiar de EC añade evidencia al diagnóstico; en asintomáticos es recomendable confirmar la positividad de anticuerpos en dos o más muestras de sangre obtenidas con un tiempo mínimo de 3 meses entre cada una; en ciertos casos es necesaria una prueba de provocación con gluten tras dos años con DSG estricta para la confirmación del diagnóstico.

La última revisión de la guía clínica de la AGA, publicada en el año 2006, establece ciertas recomendaciones para el diagnóstico en pacientes adultos pero no plantea ningún algoritmo. Como norma principal indica iniciar el estudio con la determinación de los anticuerpos específicos (a-TG2 y EMA) y la positividad de éstos se debe comprobar con la realización de una biopsia duodenal en donde se objete la presencia de daño histológico compatible con la enfermedad. Como recomendaciones secundarias plantean:

- ✓ Ambas pruebas se deben realizar antes del inicio de una DSG.
- ✓ Se recomienda obtener 4-6 muestras de la segunda porción del duodeno o más alejada, puesto que la lesión puede ser parcheada.
- ✓ Los cambios inflamatorios observados pueden verse también en otras entidades.
- ✓ Se debe tener en cuenta que la biopsia puede verse afectada en caso de que el paciente esté en tratamiento con corticoides o inmunosupresores.
- ✓ En casos de difícil diagnóstico como lesión histológica mínima, serología negativa o positiva repetidamente sin lesión histológica, el HLA ayuda a excluir el diagnóstico.

Es importante aclarar que con respecto a la biopsia, la guía plantea que si bien ésta es considerada el *gold standard* para el diagnóstico, el hecho de que la afectación sea parcheada y que algunos estadios pueden ser producidos por otras entidades, le quita valor a la prueba aunque no se puede diagnosticar la enfermedad sin la realización de la biopsia.

En general las recomendaciones son similares en ambos grupos etarios, sin embargo existe una diferencia importante y es que en niños y adolescentes la biopsia puede evitarse en presencia de clínica sugerente, a-TG2 >10 veces el límite normal, EMA positivo y genética compatible; mientras que en adultos la biopsia continúa siendo un pilar diagnóstico considerable que no puede obviarse en ningún caso.

7.6. Diagnóstico diferencial

Son muchos los factores que dificultan el diagnóstico de la EC. Entre ellos destaca la gran variabilidad clínica, pero también hay que añadir las diferencias entre los kits de diagnóstico serológico disponibles, la falta de accesibilidad a las pruebas diagnósticas, y las diferencias que existen entre unos pacientes y otros.

Las principales enfermedades con las que se debería realizar diagnóstico diferencial son: infección por *Giardia lamblia*, sobrecrecimiento bacteriano, enteropatía autoinmune, *sprue-like* por micofenolato de mofetilo o por olmesartán, entre otros, puesto que todas ellas pueden conducir al desarrollo de atrofia intestinal. Un diagnóstico diferencial importante que también debe realizarse es con las diferentes entidades que pertenecen a los trastornos relacionados con el gluten, y que en ocasiones puede ser difícil de establecer, entre ellos estarían la EC, la SGNC y la alergia al trigo. En la Tabla 9 se muestra un resumen de las principales diferencias entre estas enfermedades ⁸⁹.

Tabla 9. Diferencias entre los principales trastornos relacionados con el gluten.

	EC	SGNC	Alergia al trigo
Intervalo: exposición - inicio de síntomas	Semanas a años	Horas a días	Minutos a horas
Patogénesis	Autoinmunidad, con implicación del SI innato y adaptativo	Posiblemente inmunidad innata	Respuesta inmune alérgica
Auto-anticuerpos	Casi siempre presentes	<ul style="list-style-type: none"> • Ac específicos: Siempre ausentes • IgG anti-AGA: presentes en algunos pacientes 	Siempre ausentes
Enteropatía	Casi siempre presente	Siempre ausente, aunque puede haber infiltrado linfocitario.	Siempre ausente (presencia de eosinófilos en lámina propia)
Clínica	Gastrointestinal y extraintestinal	Gastrointestinal y extraintestinal	Gastrointestinal y extraintestinal
Complicaciones	Enfermedades asociadas, complicaciones a largo plazo	Ausentes	Complicaciones a corto plazo (anafilaxia)

EC, enfermedad celíaca. SGNC, sensibilidad al gluten no celíaca. Ac, anticuerpos. IgG, inmunoglobulina G. anti-AGA, anticuerpos anti-gliadina.

7.7. Iceberg celíaco

Durante muchos años, se consideró a la EC una enfermedad rara que afectaba prácticamente de manera exclusiva a la población caucásica europea, pero el

desarrollo de pruebas serológicas cada vez más sensibles y específicas generó un gran avance en el campo de la epidemiología, permitiendo diagnosticar nuevos casos (atípicos y/o asintomáticos) y realizar estudios epidemiológicos, lo que a su vez reveló que la enfermedad estaba infra-diagnosticada. Estos estudios, basaban sus datos de incidencia y prevalencia en registros de pacientes con presentación clínica típica y describían una incidencia de 1,2/100.000 hab/año, con una prevalencia de 1:4.587 (0,02%) individuos en EE. UU.¹⁵²; mientras que en Europa¹⁵³ se observaba una prevalencia de 1:258 (0,38%) individuos. Es en 1996 cuando Catassi¹⁵⁴ por medio de cribados serológicos demuestra que la EC era más común de lo que se creía, publicando una prevalencia de 1:184 (0,54%) niños con un *ratio* de 1 caso diagnosticado por cada 7 casos no diagnosticados. Aún hoy se considera que es una enfermedad infra-diagnosticada y que se diagnostica a 1 de cada 5 adultos y 1 de cada 3 niños^{155, 156}.

Previamente, en 1991, Richard Logan había dado una interpretación de la realidad de la enfermedad, utilizando como modelo un iceberg para explicar las diferentes formas de la EC: sintomática, silente y latente o potencial (Figura 14)¹⁵⁷, en donde la parte visible sólo correspondería a los pacientes diagnosticados y la totalidad del iceberg a la verdadera prevalencia de la enfermedad, la cual depende mayoritariamente de la frecuencia de los genotipos de riesgo presentes en la población y del consumo de gluten, entre otros, pero también va a depender del conocimiento de la enfermedad por parte de los médicos (*think of CD and you will find it*) y de la accesibilidad a las pruebas diagnósticas¹⁵⁸.

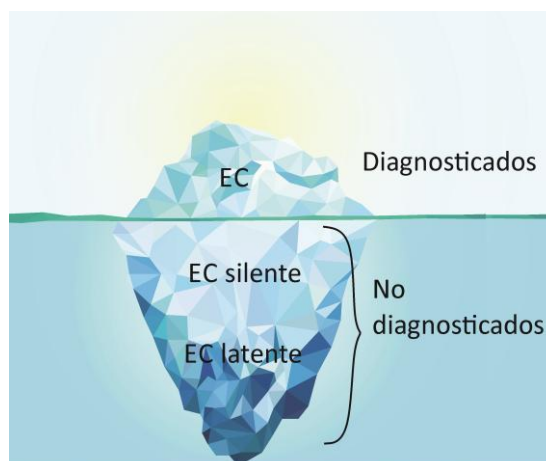


Figura 14. Iceberg de la Enfermedad Celíaca.

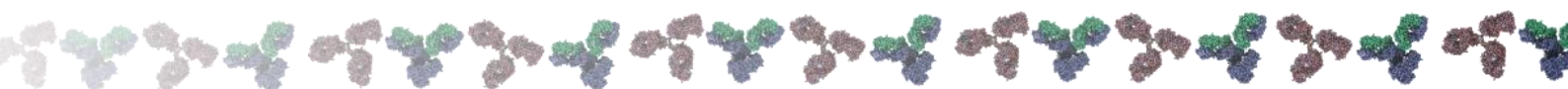
8. Tratamiento y pronóstico

El único tratamiento que ha demostrado remisión sintomática, restablecimiento de la mucosa intestinal y mejora de la calidad de vida, es la dieta libre de gluten. La EC es una enfermedad crónica, por lo que la dieta ha de seguirse a lo largo de toda la vida. Actualmente existen investigaciones dirigidas a desarrollar terapias alternativas, para lo cual se debe tener en cuenta que el objetivo es conseguir un producto que tenga la misma eficacia e inocuidad que tiene la DSG.

El pronóstico de la enfermedad está directamente relacionado con la adherencia al tratamiento, en la mayoría de los casos. Cuando el paciente no se rige a una dieta estricta libre de gluten pueden desarrollarse complicaciones con aumento en el riesgo de deficiencias nutricionales, osteoporosis, desarrollo de otras enfermedades autoinmunes, malignidad, e incluso problemas de fertilidad.

Una rara complicación que no depende de la adherencia a la dieta es la EC refractaria. Su prevalencia se desconoce, aunque está descrito que puede oscilar entre 0,002 y 0,7% ^{159, 160}, dependiendo de la población estudiada. Se define como la presencia de síntomas y signos de malabsorción con atrofia vellositaria persistente a pesar de una DSG estricta durante 6-12 meses habiéndose descartado otras causas de atrofia vellositaria y linfoma intestinal ¹⁶⁰. Existen dos variantes de acuerdo al inmunofenotipo de los LIEs y al reordenamiento de los genes del receptor de LT, la tipo I con LIEs de características normales y de pronóstico benigno con una supervivencia a los 5 años del 80-96%; la tipo II con monoclonalidad de los LIEs, resistente a tratamientos y progresión frecuente a linfoma intestinal, con muerte prematura ^{159, 160}.

OBJETIVOS

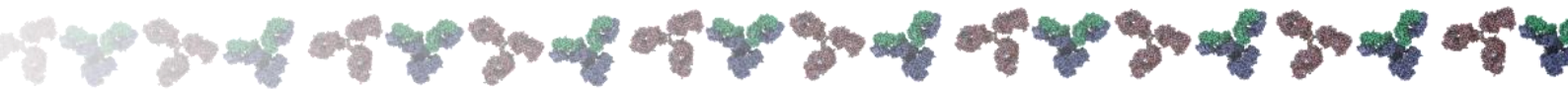


El principal objetivo de este trabajo fue tratar de reducir la parte sumergida del iceberg celíaco mediante un estudio en profundidad de las diferentes características que pueden presentar los enfermos celíacos de acuerdo con su serología específica.

Los objetivos específicos planteados fueron los siguientes:

1. Estudiar la utilidad diagnóstica del anticuerpo a-TG2-GL de tipo IgA que detecta anticuerpos frente a TG2, péptidos derivados de gliadina y presuntamente neoepítomos.
2. Estudiar la utilidad diagnóstica del anticuerpo a-PDG de tipo IgG.
3. Estudiar las diferentes características que presentan los pacientes celíacos clasificados de acuerdo al anticuerpo específico presente.
4. Estudiar si los individuos celíacos que escapan a los criterios habituales de diagnóstico presentan características comunes que faciliten su diagnóstico.

MATERIALES Y MÉTODOS



1. Estudio de subgrupos serológicos

1.1. Sujetos de estudio

Los pacientes estudiados fueron seleccionados tras revisar los datos serológicos correspondientes al estudio realizado para descartar EC de las muestras recibidas en el servicio de Inmunología del Hospital Clínico San Carlos (HCSC). Se incluyeron en total más de 1.000 pacientes, que fueron clasificados de acuerdo al resultado del estudio serológico, quedando conformados de esa manera 4 grupos:

- Pacientes seropositivos frente el anticuerpo a-TG2-GL pero negativos para los anticuerpos a-TG2 y EMA.
- Pacientes seropositivos frente los anticuerpos a-TG2-GL y EMA.
- Pacientes seropositivos sólo frente el anticuerpo a-PDG.
- Pacientes seronegativos (estos individuos fueron seleccionados de la consulta de EC del Servicio de Aparato Digestivo).

Adicionalmente a los datos serológicos, se recogieron los datos genéticos de los individuos que disponían de la prueba. Además, se recogieron los datos clínicos e histológicos mediante revisión de historias clínicas de formato papel. Para el análisis del estudio genético se emplearon individuos sin EC ni otras enfermedades de base inmunológica como controles, que correspondían a personal del HCSC o amigos de los mismos.

1.2. Estudio serológico

El protocolo de trabajo que se sigue en el Servicio de Inmunología Clínica del HCSC para diagnóstico de pacientes con sospecha de EC es el siguiente: determinación de anticuerpos a-TG2-GL de tipo IgA y anticuerpos a-PDG de tipo IgG; la positividad de a-TG2-GL se debe confirmar mediante la realización del EMA de tipo IgA, y frente a la positividad sólo de a-PDG, se cuantifica la IgA para descartar o diagnosticar DIgA y se realiza el EMA de tipo IgG. Los kits empleados para cada determinación corresponden a:

- a-TG2-GL IgA: “Aeskulisa tTg-A *New generation* ®” (Aesku.Diagnostics Wendelsheim, Alemania). Es un ELISA cuantitativo que utiliza TG2 recombinante humana y péptidos específicos de gliadina como antígenos. El punto de corte recomendado por la casa comercial es 20 UA/mL. La sensibilidad y especificidad informada por el laboratorio comercial son 97% y 95%, respectivamente; con unos VPP y VPN de 92% y 98%, respectivamente.
- a-PDG IgG: “Anti-gliadin (GAF-3X) ®” (Euroimmun, Lübeck, Alemania). Es un ELISA cuantitativo que utiliza formas deamidadas de péptidos de gliadina como antígeno. El punto de corte recomendado por la casa comercial es 25 UR/mL. La sensibilidad informada por el laboratorio comercial varía entre 84-96% y la especificidad entre 95-98%, dependiendo del grupo de individuos analizados. No ofrecen información sobre los VPP y los VPN.
- EMA (IgA o IgG): se determina por IFI a una dilución de 1:5 en porta-objetos con tejido de esófago de mono como antígeno substrato (Immco Diagnostics,

Buffalo, Nueva York, EE. UU.). Se evalúan por dos especialistas para reducir o evitar la subjetividad de la técnica.

- IgA: cuantificada en el equipo IMMAGE[®] 800 System con su correspondiente reactivo IGA (Immunoglobulin A) Reagent, 300 test (Beckman Coulter, Brea, California, EE. UU.).

1.3. Estudio genético: genotipado HLA

Se extrajo el ADN de leucocitos de sangre periférica mediante el procedimiento *salting out*. El genotipado HLA se realizó mediante dos técnicas: PCR-SSOP (*Polymerase Chain Reaction-Sequence Specific Oligonucleotide Probe*) para *HLA-DRB1*, *HLA-DQA1* y *HLA-DQB1*, o mediante PCR-SSO (*Polymerase Chain Reaction-Sequence Specific Oligonucleotide*) con tecnología Luminex para *HLA-DRB1* y *HLA-DQB1* (Tepnel Lifecodes Corp, Stamford, Connecticut, EE. UU.). En este último caso el *HLA-DQA1* se infirió de la combinación de *HLA-DRB1* y *HLA-DQB1*. Algunos individuos fueron genotipados por ambos métodos obteniéndose resultados concordantes.

1.4. Estudio histopatológico

Se recogieron los datos relativos a la evaluación de las biopsias extraídas para diagnóstico. De cada paciente se extraen 2-4 biopsias de la segunda o tercera porción del duodeno mediante la realización de una endoscopia gastrointestinal. Las biopsias son examinadas por anatómo-patólogos cualificados que las evalúan siguiendo la clasificación modificada de Marsh-Oberhuber.

Algunos pacientes también disponen de información sobre el análisis en su biopsia del linfograma intraepitelial por citometría de flujo, lo cual permite observar, sólo en pacientes celíacos, un aumento permanente de LIEs TCR $\gamma\delta^+$ combinado con un descenso de LIEs CD3 $^+$.

1.5. Criterios diagnósticos

El diagnóstico de EC de los distintos grupos etáreos se llevo a cabo siguiendo los criterios de las guías clínicas correspondientes:

- EC:
 - ESPGHAN, en el caso de niños y adolescentes, utilizando la biopsia duodenal y la remisión clínica tras la DSG para confirmar el diagnóstico²⁰, hasta la publicación de los nuevos criterios en donde se suprimió la biopsia en determinadas situaciones²¹.
 - AGA¹⁴⁸ y la ‘regla 4 de 5’ de Catassi y Fasano¹⁴⁹, en población adulta.
- EC potencial, basada en la presencia de anticuerpos específicos con mucosa duodenal normal.
- EC seronegativa fue considerada en caso de resultados negativos para los anticuerpos a-TG2-GL, a-PDG y EMA, con presencia de HLA-DQ2/DQ8, biopsia compatible con EC y respuesta a la DSG (clínica y/o histológica), con otras causas de atrofia vellositaria descartadas.

Además se consideró SGNC, atendiendo a la presencia de síntomas y/o signos precipitados por la ingesta de gluten, que desaparecían al comenzar una DSG, sin la presencia de marcadores serológicos ni daño histológico.

Se valoró como respuesta al tratamiento, la resolución de los síntomas y signos, la negativización de anticuerpos y la restauración de la mucosa duodenal objetivada por biopsia (en los casos en que fue posible).

1.6. Diagnóstico diferencial

Se realizó diagnóstico diferencial con las siguientes patologías: infección por *Helicobacter pylori* (HP), inmunodeficiencia variable común, giardiasis, *sprue* colagenoso, enteropatía autoinmune, medicaciones relacionadas con el desarrollo de atrofia vellositaria y con un síndrome *sprue-like* (olmesartán ¹⁶¹, micofenolato de mofetilo ¹⁶² y metotrexato ^{163, 164}), *sprue* tropical, sobrecrecimiento bacteriano, intolerancia a la lactosa y alergias alimentarias en el caso de niños.

1.7. Análisis estadístico

Las características entre grupos de individuos se compararon mediante la prueba U de Mann-Whitney o el test chi cuadrado, dependiendo del tipo de variable evaluada (continua o categórica). Se utilizaron pruebas de una o dos colas en función de la hipótesis evaluada: pruebas de una sola cola, cuando se esperaba una asociación en una dirección específica. En la sección de resultados, se utilizaron pruebas de dos colas a menos que se indique lo contrario.

2. Evaluación de pruebas diagnósticas

La validez o fiabilidad de un test diagnóstico corresponde a su capacidad para diagnosticar o descartar una enfermedad, y se expresa en valores que corresponden a sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN). Con el fin de obtener nuestros propios valores de esos índices, recogimos los datos de los anticuerpos que se utilizan en el HCSC de manera rutinaria (a-TG2-GL y a-PDG) correspondientes a todas las muestras recibidas en el Servicio de Inmunología durante 6 meses (Enero - Junio 2014). Esto supuso un total de 2.874 determinaciones. Del total de las determinaciones, 1.188 correspondían a individuos que acudieron para diagnóstico de la enfermedad, que fueron las que se tuvieron en cuenta para obtener los valores de los índices anteriormente nombrados. Aunque el valor obtenido del VPP es absoluto, los restantes índices, especificidad, sensibilidad y VPN, corresponden a valores relativos puesto que los individuos que resultaron negativos no continuaron estudio, habiéndoseles descartado la enfermedad sólo con la negatividad de la serología.

Hay que considerar que el VPP y VPN están afectados por la prevalencia de la enfermedad. En casos de baja prevalencia, como la EC, aunque exista una buena sensibilidad el VPP va a ser bajo. Por tanto, se pueden emplear también las razones de probabilidad (*likelihood ratio*) positiva y negativa, que indican cuánto es más probable un resultado positivo o negativo en la prueba diagnóstica dependiendo de la presencia o ausencia de la enfermedad.

3. Estudio comparativo

En vista de la gran variedad de kits disponibles para los anticuerpos a-TG2 y a-PDG, y con la finalidad de evaluar si un kit que permite la supuesta detección de neoepítos resulta más idóneo para el diagnóstico de EC realizamos un estudio comparativo en el que participaron voluntariamente varias casas comerciales.

3.1. Sujetos de estudio

El criterio de selección se basó en la positividad del anticuerpo a-TG2-GL utilizado de manera rutinaria en el Servicio de Inmunología Clínica del HCSC. Se encontraron 73 sueros positivos para ese anticuerpo en el momento de diagnóstico de EC y se utilizaron como controles 27 sueros de individuos sin antecedentes personales o familiares de enfermedades relacionadas con el sistema inmunitario.

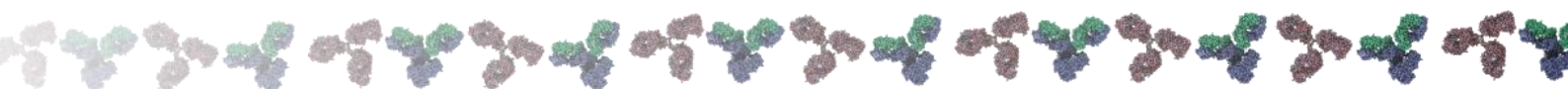
3.2. Anticuerpos comerciales evaluados

Se estudiaron los anticuerpos de primera línea de cribado serológico, a-TG2 tipo IgA y a-PDG tipo IgG. Si bien algunos kits de las casas comerciales que participaron pueden detectar y cuantificar esos anticuerpos tanto de tipo IgA como de IgG al mismo tiempo, al momento del análisis no se tuvieron en cuenta los resultados de los anticuerpos a-TG2 tipo IgG y a-PDG tipo IgA, puesto que las guías clínicas actuales no recomiendan su utilización para el diagnóstico por falta de especificidad. Las casas comerciales que participaron se citan a continuación:

- Bio-Rad, con los kits: BioPlex 2200[®] Celiac IgG y BioPlex 2200[®] Celiac IgA (Bio-Rad, California, EE. UU.).
- INOVA, con los kits: QUANTA LITE[®] h-tTG/DGP Screen (INOVA Diagnostics, Inc., San Diego, EE. UU.), este kit detecta anticuerpos a-TG2-GL basándose en el mismo principio que el de Aesku.
- Euroimmun, con los kits: “Anti-gliadin (GAF-3X)[®] (IgG)”, Anti-gliadin (GAF-3X)[®] (IgA), Anti-TG2 (IgG)[®] y Anti-TG2 (IgA)[®] (Euroimmun, Lübeck, Alemania).
- Aesku.Diagnostics, con los kits: “Aeskulisa tTg-A New generation[®]” y Aeskulisa DGP-GA[®] (Aesku.Diagnostics, Wendelsheim, Alemania).

Como puntos de corte se utilizaron los recomendados por cada casa comercial.

RESULTADOS



1. Individuos seropositivos para a-TG2-GL y EMA

El periodo estudiado para este grupo comprendió de Enero de 2005 a Junio de 2012 (7 años y medio). Encontramos 129 adultos y 107 niños/adolescentes que resultaron positivos para los anticuerpos a-TG2-GL y EMA, con biopsia compatible (y HLA compatible en los casos con que estaba disponible), y por tanto recibieron el diagnóstico de EC. Las características demográficas de cada grupo poblacional se muestran en Tabla 10.

Tabla 10. Datos demográficos de pacientes a-TG2-GL y EMA positivos.

	Población pediátrica	Población adulta
Total	107	129
Sexo femenino <i>N</i> (%)	59 (55,1)	94 (72,8)
Edad media \pm ES (años)	4,48 \pm 0,3	40,1 \pm 1,4
Rango de edad	1-15	16-86

ES, error estándar.

En la Tabla 11 se muestran las características principales en relación a los datos de 50 individuos de cada grupo, niños y adultos, debido a que el motivo de inicio del estudio no se pudo obtener en todos los pacientes. Con respecto a los niveles de anticuerpos, encontramos en la población pediátrica un nivel promedio de 253,9 \pm 11,7 UA/mL y 168,5 \pm 16,5 UR/mL para los anticuerpos a-TG2-GL y a-PDG, respectivamente; y en adultos unos niveles de 265,5 \pm 9,9 UA/mL y 136,5 \pm 12,6 UR/mL para a-TG2-GL y a-PDG, respectivamente. El 20% de los niños y el 60% de los adultos presentaban además positividad frente a a-PDG.

Tabla 11. Características serológicas y clínicas de 100 pacientes celíacos EMA positivo.

	Población pediátrica	Población adulta
Número de individuos	50	50
Sexo femenino <i>N</i> (%)	29 (58)	36 (72)
Edad media \pm ES (años)	4,6 \pm 0,6	38 \pm 2,1
Rango de edad	1-15	16-76
a-TG2-GL (UA/mL)		
Media \pm ES	253,9 \pm 11,7	265,5 \pm 9,9
Rango	32-300	50-300
a-PDG (UR/mL) positivo <i>N</i> (%)	10 (20)	30 (60)
Media \pm ES	168,5 \pm 16,5	136,5 \pm 12,6
Rango	63-200	26-236
Clínica		
Diarrea	16 (32)	17 (34)
Dolor abdominal y distensión abdominal	28 (56) ^a	20 (40)
Talla baja / Retraso del crecimiento	4 (8)	-
Pérdida o bajo peso	24 (48)	3 (6)
Anemia ferropénica	7 (14)	8 (16)
Síntomas neurológicos	0	1 (2)
Déficit vitamina B12, ácido fólico	0	17 (34)
Hipertransaminasemia	1 (2)	4 (8)
Otros	20 ^b (40)	1 ^c (2)
Asintomáticos	0	1 ^d (2)
Síndrome de Down	0	0
Familiar de 1 ^{er} grado con EC	0	1 ^e (2)
Enfermedades autoinmunes	0	1 ^f (2)
Dermatitis herpetiforme	0	1 (2)

ES, error estándar. a-TG2-GL, anticuerpo anti-transglutaminasa 2 y péptidos modificados de gliadina. a-PDG, anticuerpo anti-péptido deamidado de gliadina. EC, enfermedad celíaca.

a, 5 pacientes presentaban sólo dolor abdominal recurrente (10%), los restantes distensión abdominal.

b, incluye 6 niños con sintomatología paucisintomática digestiva y 14 niños con alteración del carácter.

c, aftas orales. *d*, *e* y *f*, corresponden al mismo paciente que presentaba enfermedad tiroidea autoinmune, familiaridad y se encontraba asintomático.

En la población pediátrica los síntomas y signos que se presentaron con mayor frecuencia correspondieron a los de origen gastrointestinal, como dolor abdominal, distensión abdominal y bajo peso, seguidos por diarrea y alteración del carácter. En la población adulta la clínica predominante fueron los síntomas y signos gastrointestinales, así como los déficits secundarios a la malabsorción (vitamina B12, ácido fólico y anemia ferropénica). Sólo un individuo adulto (2%) se encontraba asintomático, pero pertenecía a grupos de riesgo (familiaridad y enfermedad tiroidea autoinmune); y otro individuo fue estudiado por presentar dermatitis herpetiforme.

En ambas poblaciones se pudo realizar la endoscopia digestiva alta con toma de biopsia, los datos histopatológicos de los pacientes se muestran en la Tabla 12. La mayoría de los individuos adultos, el 90%, y el 100% de los niños presentó daño histológico compatible con EC (Marsh 3 - Marsh 4). El informe de anatomía patológica de dos pacientes adultos (4%) indicaba como diagnóstico “duodenitis crónica inespecífica”, ambos individuos fueron diagnosticados como celíacos por presentar positividad de los anticuerpos específicos (uno de ellos a-TG2-GL 75 UA/mL con EMA positivo, el otro con a-TG2-GL 300 UA/mL y EMA positivo), la clínica y la genética también eran compatibles (ambos DQ2.5); si bien el linfograma intraepitelial no se les pudo realizar puesto que en el momento de la endoscopia no se encontraba disponible la técnica, se les descartaron entre otras causas, infección por HP y la ingesta de AINES. Tras el inicio de la DSG se evidenció respuesta clínica y analítica con negativización de anticuerpos. En vista de que los individuos se negaron a la prueba de provocación, actualmente se encuentran pendientes de realización de una nueva endoscopia para estudio histológico, con el fin de objetivar resolución de la lesión y realización de

estudio por citometría de flujo. Los tres pacientes adultos que presentaron en el momento del diagnóstico biopsia compatible con Marsh 1, fueron diagnosticados de EC tras haberse descartado también todas las posibles causas de enteritis linfocítica (toma de AINES, infección por *Helicobacter pylori* entre otras). Estos pacientes presentaron los siguientes valores de anticuerpos:

- Paciente 1: a-TG2-GL 300 UA/mL y EMA positivo.
- Paciente 2: a-TG2-GL 300 UA/mL y EMA positivo.
- Paciente 3: a-TG2-GL 193 UA/mL y EMA positivo.

Los dos primeros individuos presentaron resolución clínica, analítica (disminución hasta la negativización del anticuerpo) e histológica (biopsia normal) tras el inicio de la DSG. El tercer individuo presentó resolución clínica y analítica, encontrándose pendiente de realización de una nueva endoscopia y estudio por citometría de flujo.

Con respecto a los datos genéticos de los pacientes (Tabla 12) de la población celíaca adulta y pediátrica con las pruebas genéticas realizadas, el 97,5% de los adultos y el 93,3% de los pediátricos presentaban la genética responsable de las moléculas de riesgo HLA-DQ2.5, y el 2,5% de adultos y el 2,2% de niños presentaban la genética responsable del HLA-DQ8. Sólo en la población pediátrica encontramos pacientes celíacos (4,4%) que presentaban la genética que codifica la molécula HLA-DQ2.2.

Tabla 12. Datos histopatológicos y genéticos de pacientes celíacos EMA positivo.

	Población pediátrica N (%)	Población adulta N (%)
Clasificación de Marsh - Oberhuber		
Marsh 4	0	1 (2)
Marsh 3c	19 (38)	11 (22)
Marsh 3b	31 (62)	18 (36)
Marsh 3a	0	15 (30)
Marsh 2	0	0
Marsh 1	0	3 (6)
Duodenitis crónica inespecífica	0	2 (4)
Riesgo genético (HLA)*		
DQ2.5	42 (93,3)	39 (97,5)
DQ8	1 (2,2)	1 (2,5)
DQ2.2	2 (4,4)	0
DQ7.5	0	0
Otros	0	0

DQ2.5= *DQB1*02-DQA1*05*; DQ2.2= *DQB1*02:02-DQA1*02:01*. DQ8=*DQB1*03:02-DQA1*03*. DQ7.5= *DQA1*05*.

* A 5 pacientes (10%) de la población pediátrica y a 10 (20%) de la población adulta no se les realizaron las pruebas genéticas, puesto que dado el resto de sus pruebas no eran necesarias para el diagnóstico.

2. Individuos seropositivos para a-TG2-GL pero EMA negativos

Durante los 10 años comprendidos entre Enero de 2005 a Diciembre de 2014, encontramos en total 121 niños y 296 adultos que presentaban positividad frente al anticuerpo a-TG2-GL pero no frente a EMA, los datos demográficos se muestran en la Tabla 13.

Tabla 13. Datos demográficos de pacientes con a-TG2-GL positivo y EMA negativo.

	Población pediátrica	Población adulta
Total	121	296
Sexo femenino <i>N</i> (%)	44 (36,3)	177 (59,8)
Edad media \pm ES (años)	5,6 \pm 0,4	50,6 \pm 1,03
Rango de edad	1-15	16-86

ES, error estándar.

Dentro de la población pediátrica encontramos 18 niños (14,8%) con diagnóstico de EC. El EMA a pesar de que en muchos de ellos se repitió en diferentes muestras de suero del mismo paciente, resultó negativo. En la Tabla 14 se muestran las principales características de los pacientes clasificados de acuerdo al diagnóstico: EC, NO EC (pacientes en los que se descartó la enfermedad) y DI (pacientes con diagnóstico incierto que continúan en estudio). Con respecto a los niveles observados de anticuerpos, los individuos que padecen la enfermedad presentaron un nivel de a-TG2-GL dos veces mayor significativamente que los no diagnosticados ($p=0,021$) y que los de DI ($p=0,017$): $157 \pm 27,8$ UA/mL en EC, $81,8 \pm 12,4$ UA/mL en NO EC y $78,5 \pm 11,9$ UA/mL en DI. En el caso del anticuerpo a-PDG, los niveles también fueron más altos en los niños con EC, aunque las diferencias no fueron significativas con los NO EC ($p=0,16$) ni con los de DI ($p=0,19$): $89,7 \pm 37,5$ UR/mL en EC, $41,5 \pm 7,6$ UR/mL en NO EC y $44,8 \pm 7,8$ UR/mL en DI. Estos a-PDG se encontraron en el 22% de los niños con EC, frente al 11% de niños de los otros dos grupos.

Tabla 14. Características de pacientes pediátricos EMA negativo.

	EC	NO EC	DI
Número de individuos (%)	18 (14,8)	51 (42,1)	52 (43)
Sexo femenino <i>N</i> (%)	4 (22,2)	15 (29,4)	25 (48,1)
Edad media \pm ES (años)	4,5 \pm 1,0	5,8 \pm 0,6	5,7 \pm 0,6
Rango de edad	1-14	1-15	1-15
a-TG2-GL (UA/mL)			
Media \pm ES	157 \pm 27,8	81,8 \pm 12,4	78,5 \pm 11,9
Rango	23,3-300	20,1-300	20,2-300
a-PDG (UR/mL) positivo <i>N</i> (%)	4 (22,2)	6 (11,7)	6 (11,5)
Media \pm ES	89,7 \pm 37,5	41,5 \pm 7,6	44,8 \pm 7,8
Rango	0,1-200	0,1-67,3	0,1-74,9
Clínica			
Diarrea	6 (33,3)	12 (23,5)	10 (19,2)
Dolor abdominal	3 (16,6)	15 (29,4)	7 (13,4)
Talla baja / Retraso del crecimiento	6 (33,3)	10 (19,6)	8 (15,4)
Bajo peso	6 (33,3)	10 (19,6)	6 (11,5)
Anemia ferropénica	2 (11,1)	3 (5,8)	2 (3,8)
Síntomas neurológicos	0	1 (1,9)	0
Déficit vitamina B12, ácido fólico.	0	1 (1,9)	0
Hipertransaminasemia	0	0 (0)	3 (5,7)
Otros	0	1 ^b (1,9)	2 ^c (3,8)
Asintomáticos	3 ^a (16,6)	8 (15,7)	4 ^d (7,7)
Síndrome de Down	3 (16,6)	2 (3,9)	3 (5,7)
Familiar de 1 ^{er} grado con EC	1 (5,5)	4 (7,8)	0
Enfermedades autoinmunes	0	0	0

EC, enfermedad celíaca. DI, diagnóstico incierto. a-TG2-GL, anticuerpo anti- transglutaminasa 2 y péptidos modificados de gliadina. a-PDG, anticuerpo anti-péptido deamidado de gliadina. ES, error estándar.

a, los tres pacientes son los mismos que presentan síndrome de Down, y uno de ellos también presentaba familiaridad. *b*, aftas bucales. *c*, incluye aftas bucales e hiporexia. *d*, los tres pacientes son los mismos que presentan Síndrome de Down, y el otro corresponde a un hallazgo casual en un niño con patología renal en el que se realizó el cribado buscando enfermedades autoinmunes.

En cuanto a la presentación clínica, puesto que la sintomatología de la enfermedad es amplia y variada, no se observaron diferencias significativas entre grupos, encontrándose los síntomas y signos habitualmente observados en niños con sospecha de EC. Los pacientes diagnosticados con EC presentaban síntomas clásicos, a excepción de dos niños que fueron estudiados por presentar anemia ferropénica y tres niños asintomáticos pero estudiados por presentar síndrome de Down, uno de ellos también tenía un familiar de primer grado con EC y otro presentaba además enfermedad tiroidea autoinmune. Entre los síntomas clásicos, la mayoría de los pacientes presentaron talla baja o retraso del crecimiento, seguidos de diarrea y bajo peso; estas características se observaron también con elevada frecuencia en los individuos no diagnosticados de EC.

En cuanto a los pacientes con diagnóstico incierto, que aún continúan en estudio, estos presentan características similares a los diagnosticados como no celíacos, principalmente respecto a los niveles de los auto-anticuerpos. La clínica referida fue similar a los otros dos grupos con predominio de síntomas y signos gastrointestinales junto con talla baja y retraso del crecimiento.

A todos los niños/adolescentes diagnosticados de EC se les realizó endoscopia superior con toma de biopsia duodenal, resultando compatible con la enfermedad. Dentro de los pacientes diagnosticados como NO EC, el 56,8% (29/51) no presentaba biopsia compatible y al resto de pacientes se le descartó la enfermedad por remisión clínica, HLA no compatible o negativización de anticuerpos. En el grupo de pacientes que aún continúan en estudio y mantienen una elevada sospecha de EC, al 92,3% (48/52) no se les ha realizado la biopsia, el 5,7% (3/52) tienen biopsia normal y un 2%

(2/52) presentó Marsh 1 en el estudio histopatológico que parecía debido a otras entidades distintas de EC.

Con respecto a la población adulta, de los 296 individuos considerados inicialmente, dos pacientes fallecieron, uno previo al diagnóstico y otro habiéndosele descartado la enfermedad. De los restantes individuos (294), el 8,5% (25) fueron diagnosticados como celíacos, al 59,9% (176) se le descartó la enfermedad y el 31,6% (93) continúan en estudio. En la Tabla 15 se muestran las características de la población adulta clasificada de acuerdo al diagnóstico: EC, NO EC y DI.

De acuerdo a los niveles observados de a-TG2-GL, contrariamente a lo que se observó en la población pediátrica, en los individuos adultos diagnosticados con EC se encontró un valor ligeramente superior (a-TG2-GL $97,1 \pm 16,8$ UA/mL), pero que no era significativamente diferente del observado en los restantes grupos, que presentaban valores promedios de $86,3 \pm 6,2$ UA/mL en NO EC y $85,8 \pm 8,4$ UA/mL en DI. Sólo el 11,5% de los individuos celíacos presentaron anticuerpos a-PDG, con un nivel promedio de 97,1 UR/mL. En cuanto a los valores promedios de este anticuerpo: $170 \pm 24,2$ UR/mL en EC, $50,1 \pm 10,3$ UR/mL en NO EC y $94,3 \pm 19,9$ UR/mL en DI, se encontraron diferencias significativas ($p=0,018$) entre los EC y los NO EC, que presentaron un valor tres veces inferior del nivel del anticuerpo.

Tabla 15. Características de pacientes adultos EMA negativo.

	EC	NO EC	DI
Número de individuos (%)	25 (8,5)	176 (59,9)	93 (31,6)
Sexo femenino <i>N</i> (%)	16 (64)	103 (58,5)	57 (61,3)
Edad media \pm ES (años)	46,5 \pm 2,8	49,5 \pm 1,3	53,1 \pm 2,0
Rango de edad	22-75	17-86	16-88
a-TG2-GL (UA/mL)			
Media \pm ES	97,1 \pm 16,8	86,3 \pm 6,2	85,8 \pm 8,4
Rango	24-300	20-300	20-300
a-PDG (UR/mL) positivo <i>N</i> (%)	3 (11,5)	8 (4,5)	3 (3,2)
Media \pm ES	170 \pm 24,2	50,1 \pm 10,3	94,3 \pm 19,9
Rango	0,1-200	0,1-118	0,1-123
Clínica			
Diarrea	10 (38,5)	48 (27,3)	26 (27,9)
Dolor abdominal	9 (36)	57 (32,4)	31 (33,3)
Pérdida de peso	4 (15,4)	11 (6,25)	7 (7,5)
Anemia ferropénica	11 (42,3)	34 (19,3)	19 (20,4)
Síntomas neurológicos	1 (3,8)	3 (1,7)	0
Déficit vitamina B12, ácido fólico.	4 (15,4)	10 (5,7)	3 (3,2)
Hipertransaminasemia	7 (26,9)	29 (16,5)	12 (12,9)
Otros	4 ^a (15,4)	5 ^b (2,8)	2 ^c (2,1)
Asintomáticos	0	6 (3,4)	0
Síndrome de Down	0	0	0
Familiar de 1 ^{er} grado con EC	0	2 (1,1)	0
Enfermedades autoinmunes	0	0	0
Dermatitis herpetiforme	0	3 (1,7)	1 ^d (1,1)

EC, enfermedad celíaca. SGNC, sensibilidad al gluten no celíaca. DI, diagnóstico incierto. a-TG2-GL, anticuerpo anti- transglutaminasa 2 y péptidos modificados de gliadina. a-PDG, anticuerpo anti-péptido deamidado de gliadina. ES, error estándar.

a, incluye osteoporosis y astenia. *b*, incluye elevación de reactantes de fase aguda, esquizofrenia, estreñimiento y astenia. *c*, incluye fibromialgia y osteoporosis. *d*, el paciente presentaba además diarrea como síntoma digestivo.

En cuanto a la presentación clínica, en los tres grupos, los síntomas y signos gastrointestinales se observaron en un alto porcentaje de individuos, aunque la anemia ferropénica fue la predominante entre los diagnosticados de EC. Dentro del grupo de EC la hipertransaminasemia se observó también en un alto número de pacientes. La diarrea y el dolor abdominal si bien se presentaron con elevada frecuencia en el grupo de los celíacos, son síntomas poco específicos de la enfermedad presentándose también con elevada frecuencia en los otros grupos, además de que pueden encontrarse en muchas otras patologías no relacionadas con la EC. Sólo se encontraron diferencias significativas entre los EC con respecto a los NO EC y los de DI en la clínica secundaria a la malabsorción: en anemia ferropénica se observó una frecuencia dos veces mayor ($p=0,009$) y déficit de vitamina B12 y ácido fólico, se presentaron con una frecuencia tres ($p=0,08$) y cinco veces mayor ($p=0,04$).

Al igual que en la población pediátrica, los individuos que aún continúan en estudio presentan características clínicas y valores de anticuerpos similares al grupo ya diagnosticado como NO EC, por lo que lo más probable es que en la mayoría de estos individuos la EC sea finalmente descartada.

En lo que respecta a la lesión histopatológica, todos los pacientes celíacos pertenecientes a ambas poblaciones, pediátricos y adultos, fueron biopsiados mediante la realización de endoscopia digestiva alta, y en los que fue posible se les analizó el linfograma intraepitelial por citometría de flujo. Los datos histológicos de los pacientes se muestran en la Tabla 16.

Tabla 16. Datos histopatológicos de individuos celíacos EMA negativo.

	EC pediátricos EMA – N=18	EC adultos EMA – N=25
Clasificación de Marsh - Oberhuber		
Marsh 3c	2 (11,1)	2 (8)
Marsh 3b	3 (16,6)	5 (20)
Marsh 3a	10 (55,5)	11 (44)
Marsh 2	2 (11,1)	2 (8)
Marsh 1	1 (5,5)	3 (12)
Normal	0	2 (8)

EC, enfermedad celíaca. EMA, anticuerpo anti-endomisio.

Ambos grupos presentaron daño compatible con la enfermedad, siendo más frecuente la lesión correspondiente a Marsh 3a. En el caso de los pacientes adultos, las dos biopsias informadas como “normal” fueron consideradas como lesión parcheada, puesto que los dos individuos eran sintomáticos y presentaron linfograma intraepitelial compatible con EC con los siguientes valores:

- Paciente 1: 4,6% de $CD3^-$ y 36,2% de $CD3^+TCR\gamma\delta^+$.
- Paciente 2: 16,5% de $CD3^-$ y 18,8% de $CD3^+TCR\gamma\delta^+$ (paciente en DSG).

En cuanto a los datos genéticos de los pacientes celíacos EMA negativos, niños y adultos, en la Tabla 17 se muestran los datos de ambas poblaciones junto con los de un grupo de individuos celíacos diagnosticados previo a la utilización del anticuerpo a-TG2-GL y los de un grupo control.

Tabla 17. Distribución del riesgo genético en los diferentes grupos de pacientes celíacos y en controles (N (%)).

Riesgo genético (HLA)	EC pediátricos EMA– N=18	EC adultos EMA– N=15 ^a	EC ^b N=485	Controles N=628
Muy alto				
DQ2.5 <i>cis</i> +DQ2.5 <i>cis</i>	0	0	59 (12,2)	9 (1,4)
DQ2.5 <i>cis</i> +DQ2.2	1 (5,5)	4 (26,7)	131 (27)	21 (3,3)
Alto				
DQ2.5 <i>cis</i> +no DQ2.2	5 (27,7)	4 (26,7)	204 (42,1)	129 (20,5)
DQ2.5 <i>trans</i>	3 (16,6)	0	63 (13)	29 (4,6)
Moderado				
DQ8	2 (11,1)	1 (6,6)	17 (3,5)	80 (12,7)
Bajo				
DQ2.2	1 (5,5)	2 (13,3)	9 (1,9)	98 (15,6)
DQ7.5	3 (16,6)	3 (20)	1 (0,2)	117 (18,6)
Sin riesgo				
Otros	3 (16,6)	1 (6,7)	1 (0,2)	145 (23,1)

EC, enfermedad celíaca. EMA, anticuerpo anti-endomisio.

^a, El tipaje genético no se realizó en 10 de los 25 pacientes adultos.

^b, EC diagnosticados antes de la utilización del test a-TG2-GL.

DQ2.5= *DQB1*02-DQA1*05*. DQ2.2= *DQB1*02:02-DQA1*02:01*. DQ8=*DQB1*03:02-DQA1*03*. DQ7.5= *DQA1*05*.

Contrariamente a lo observado en el grupo de celíacos EMA positivo, el porcentaje de pacientes DQ2.5 es sólo de aproximadamente el 50% en las poblaciones de niños y adultos EMA negativos. Además entre los individuos que carecen de esta genética de riesgo encontramos mayor frecuencia de enfermos que presentan la molécula HLA-DQ7.5, 17% en niños y 20% en adultos del total y el 37,5% de los pacientes no HLA-DQ2, con un valor significativo respecto al grupo de celíacos

diagnosticados previo al uso del anticuerpo a-TG2-GL, en los que sólo el 0,2% del total y 4% de los no HLA-DQ2 son HLA-DQ7.5 ($p=0,006$).

Dentro de los pacientes diagnosticados como celíacos que no presentan riesgo genético para la enfermedad, en el grupo de EC EMA positivo hay un solo paciente, el cual presenta el haplotipo *DQB1*06:02 - DQA1*01:02 - DRB1*02* en homocigosis. En el grupo de EC EMA negativo, encontramos una niña y un adulto con los alelos *DQB1*05 - DQA1*01* (DQ5), la niña fue diagnosticada como celíaca por presentar en la biopsia Marsh 3c, y el adulto por presentar linfograma intraepitelial compatible con EC (4,6% CD3⁻ y 36,2% de CD3⁺TCR $\gamma\delta$ ⁺). Los otros dos pacientes que carecen de los alelos HLA-DQ2/DQ8 son niños que presentan los haplotipos *DQB1*06:03 - DQA1*01:03 - DRB1*06* y *DQB1*06:02 - DQA1*01:02 - DRB1*02* (DQ6), y recibieron el diagnóstico de EC por presentar en la biopsia Marsh 3a, es importante resaltar que uno de estos niños no es de ascendencia europea. Estos últimos dos niños y el paciente adulto presentaron remisión clínica tras el inicio de la DSG. A la niña con Marsh 3c y los alelos *DQB1*05 - DQA1*01* no se le pudo realizar seguimiento puesto que no continuó asistiendo a las consultas de nuestro hospital. En la Figura 15 se muestran las biopsias de los tres pacientes pediátricos sin genética de riesgo.

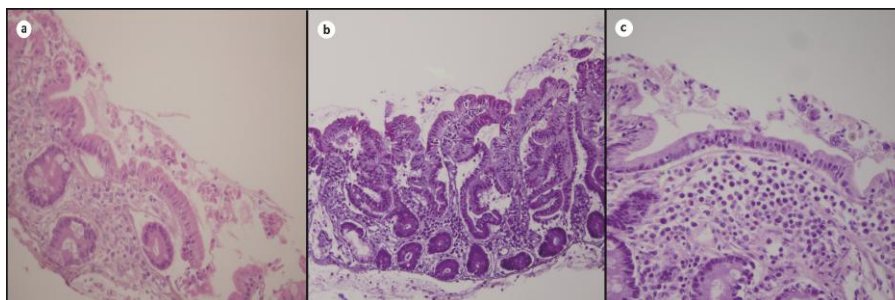


Figura 15. Imágenes de biopsias de pacientes celíacos sin HLA de riesgo para EC. Las biopsias a, b y c corresponden a pacientes pediátricos: a) Imagen a 40x Marsh 3a; b) Imagen a 20x Marsh 3a; c) Imagen a 40x Marsh 3c.

En la Figura 16 se muestran las biopsias de 5 de los 6 pacientes celíacos (pediátricos y adultos) con HLA-DQ7.5, a uno de los individuos adultos se le realizó la endoscopia y biopsia fuera de nuestro hospital, por lo cual no disponemos de la imagen.

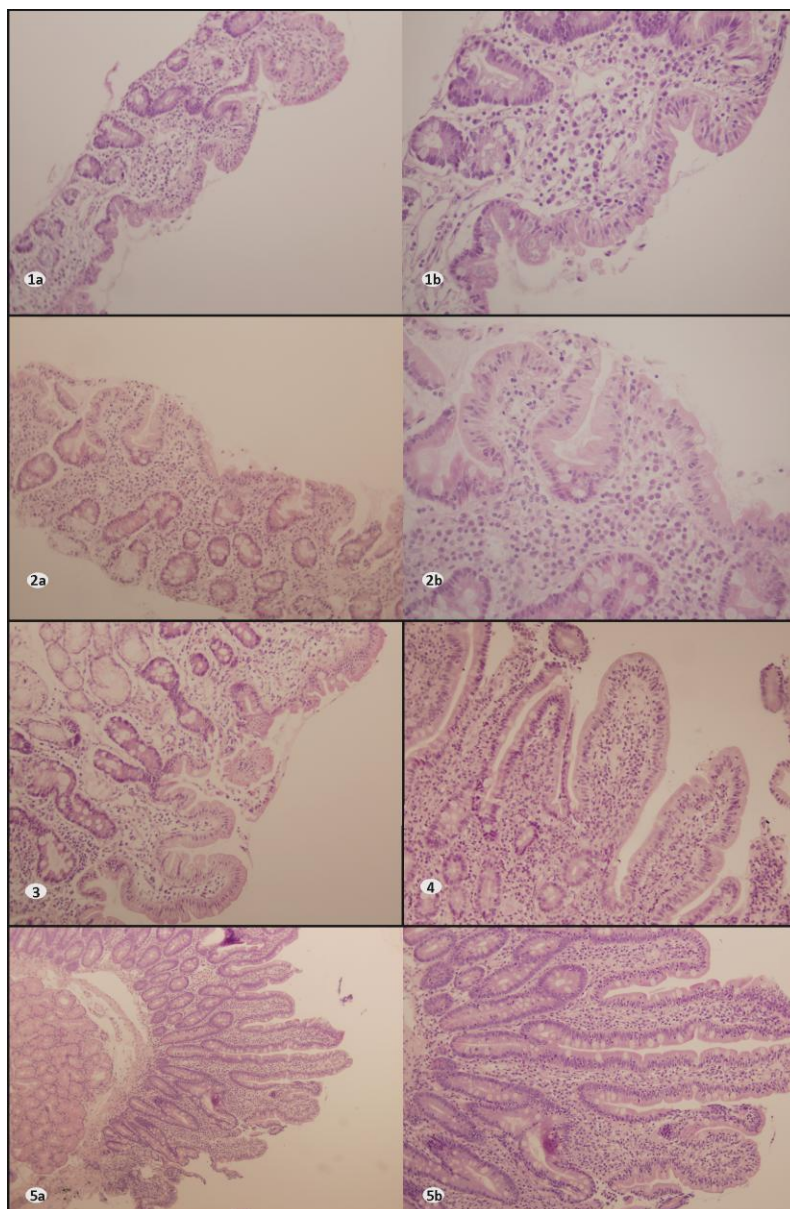


Figura 16. Imágenes de biopsias de pacientes celíacos con HLA-DQ7.5. Pediátricos: 1a y b) Imágenes a 20x y a 40x: Marsh 3b.3) 2a y b) Imágenes a 20x y a 40x: Marsh 3b.3) Imagen a 40x: Marsh 3a. Adultos: 4) Imagen a 40x: Marsh 3a. 5a y b) Imágenes a 20x y a 40x: Marsh 3a.

3. Individuos seropositivos sólo para a-PDG IgG

Se recogieron los datos de un periodo aproximadamente de 5 años (Junio 2008 – Abril 2013) de individuos con positividad frente a anticuerpos a-PDG tipo IgG y negativos para los anticuerpos restantes (a-TG2-GL negativo y EMA negativo). Esto resultó en 420 individuos, cuyos datos demográficos se muestran en la Tabla 18. Es importante resaltar que ningún paciente de este grupo, niño o adulto, presentaba DIgA u otro tipo de inmunodeficiencia.

Tabla 18. Datos demográficos de pacientes con a-PDG positivo.

	Población pediátrica	Población adulta
Total N	97	323
Sexo femenino N (%)	55 (56,7)	207 (64,1)
Edad media \pm ES (años)	5,6 \pm 0,4	48,06 \pm 1,02
Rango de edad	1-15	16-88

ES, error estándar.

Con respecto a la población pediátrica, sólo un 3,1% de niños (3) fue diagnosticado de EC. Un 9,3% (9 niños) aún continúan en estudio y al 87,6% se les descartó la enfermedad. Dentro de estos últimos, un 49,4% no tenía biopsia compatible y al 50,6% restante si bien no se les realizó endoscopia con toma de biopsia, la enfermedad se descartó por negativización del anticuerpo, remisión clínica, HLA no compatible y/o diagnóstico de otra enfermedad causante de la sintomatología del paciente. En la Tabla 19 se muestran las características de la población pediátrica clasificada de acuerdo al diagnóstico: EC, NO EC y DI.

Tabla 19. Características de los 97 pacientes pediátricos con a-PDG positivo.

	EC	NO EC	DI
Número de individuos <i>N</i> (%)	3 (3,1)	85 (87,6)	9 (9,3)
Sexo femenino <i>N</i> (%)	2 (66,6)	49 (57,6)	4 (44,4)
Edad media \pm ES (años)	4,7 \pm 2,8	5,6 \pm 0,4	6,06 \pm 1,3
Rango de edad	2-10	1-15	2-11
a-PDG (UR/mL)			
Media \pm ES	99,6 \pm 34,1	42,1 \pm 1,9	40,8 \pm 5,6
Rango	50-165	25-137	27-82
Clínica			
Diarrea	1 (33,3)	16 (18,8)	2 (22,2)
Dolor abdominal	1 (33,3)	29 (34,1)	4 (44,4)
Talla baja / Retraso del crecimiento	1 (33,3)	13 (15,3)	1 (11,1)
Bajo peso	0	11 (12,9)	0
Anemia ferropénica	0	3 (3,5)	1 (11,1)
Síntomas neurológicos	0	2 (2,3)	0
Déficit vitamina B12, ácido fólico	0	0	0
Hipertransaminasemia	0	2 (2,3)	0
Otros	0	7 ^a (8,2)	2 ^b (22,2)
Asintomáticos	0	0	0
Grupos de riesgo	0	0	0

EC, enfermedad celíaca. DI, diagnóstico incierto. ES, error estándar. a-PDG, anticuerpo anti-péptido deamidado de gliadina.

a, incluye astenia, irritabilidad, urticaria y desorden metabólico. *b*, incluye urticaria y desorden metabólico.

Dentro de los pacientes diagnosticados como celíacos, si bien presentaron un valor más elevado del nivel del anticuerpo a-PDG (99,6 \pm 34,1 UR/mL) no se encontraron diferencias significativas con los restantes grupos, que presentaron los siguientes niveles promedios: 42,1 \pm 1,9 UR/mL en NO EC y 40,8 \pm 5,6 UR/mL en DI; si

bien la potencia estadística es insuficiente. Con respecto a la clínica, los 3 pacientes con EC presentaban sintomatología clásica. En dos de ellos la biopsia fue informada como Marsh 3b y en el individuo restante Marsh 3c. Los tres presentaban la molécula HLA-DQ2.5.

En la población adulta encontramos sólo 3 pacientes con diagnóstico de EC (0,93%), 16 individuos (4,9%) continúan en estudio y a un 92,1% se le descartó la enfermedad. En la Tabla 20 se muestran las principales características de cada grupo clasificado de acuerdo al diagnóstico en: EC, NO EC y DI. Los niveles del anticuerpo fueron similares entre los grupos, aunque más bajos que los observados en el grupo de individuos celíacos con positividad frente al EMA. En lo que se refiere a la presentación clínica, los síntomas gastrointestinales junto con la anemia ferropénica fueron el principal motivo causal del inicio de estudio de la enfermedad en cada grupo. Los tres individuos diagnosticados como EC presentaban al momento del diagnóstico clínica sugerente, a uno de ellos no se le realizó el tipaje genético, otro presentaba la molécula HLA-DQ2.5 y el paciente restante la molécula HLA-DQ2.2. Los tres presentaron daño histológico compatible en la biopsia: dos de ellos Marsh 3a y uno Marsh 3b.

Dentro de los pacientes a los que se les descartó EC, un 55,3% presentaron remisión clínica o fueron diagnosticados de otra entidad causal de su sintomatología, 28,3% de los individuos tenían biopsia no compatible con la enfermedad, 3,9% no presentaban HLA compatible, 11,8% negativizaron anticuerpos sin realización de DSG y 2 individuos no continuaron estudio en el HCSC.

Tabla 20. Características de los 323 pacientes adultos con a-PDG positivo.

	EC	NO EC	DI
Número de individuos (%)	3 (0,93)	304 (94,1)	16 (4,9)
Sexo femenino <i>N</i> (%)	2 (66,6)	193 (63,5)	12 (75)
Edad media \pm ES (años)	47,2 \pm 8,3	48 \pm 1,05	48,6 \pm 5,6
Rango	38-64	16-88	16-85
a-PDG (UR/mL)			
Media \pm ES	34 \pm 1,7	51,5 \pm 2,1	40,7 \pm 4,1
Rango	31-37	25-300	26-86
Clínica			
Diarrea	2 (66,6)	49 (16,1)	2 (12,5)
Dolor abdominal	1 (33,3)	63 (20,7)	11 (68,7)
Pérdida de peso	1 (33,3)	7 (2,3)	3 (18,7)
Anemia ferropénica	1 (33,3)	34 (11,2)	6 (37,5)
Síntomas neurológicos	0	0	0
Déficit vitamina B12, ácido fólico	1 (33,3)	7 (2,3)	1 (6,2)
Hipertransaminasemia	0	24 (7,9)	1 (6,2)
Otros	0	3 ^a (0,98)	2 ^d (12,5)
Asintomáticos	0	1 ^b (0,3)	0
Grupos de riesgo	0	1 ^c (0,3)	0

EC, enfermedad celíaca. DI, diagnóstico incierto. ES, error estándar. a-PDG, anticuerpo anti-péptido deamidado de gliadina.

a, incluye astenia y fibromialgia. *b*, fue estudiado por pertenecer a grupo de riesgo (familiaridad). *c*, corresponde al paciente con familiar de primer grado con EC. *d*, incluye astenia.

Las principales características de los seis pacientes celíacos diagnosticados por serología positiva sólo frente a PDG de tipo IgG se describen en la Tabla 21.

Tabla 21. Principales características de los pacientes celíacos con a-PDG positivo.

Edad/ sexo	Clínica	a-PDG (UR/mL)	HLA	Biopsia	Respuesta clínica		
					Analítica ^a	Clínica	Biopsia
2/M	Diarrea	165	DQ2.5	Marsh 3c	Sí	Sí	NR
2/F	Dolor abdominal y vómitos	50,5	DQ2.5	Marsh 3b	Sí	Sí	NR
10/F	Retraso del crecimiento	84,2	DQ2.5	Marsh 3b	Sí	Sí	NR
38/M	Diarrea	31,4	NR	Marsh 3a	No continuó estudio		
40/F	Anemia ferropénica. Familiaridad	34,2	DQ2.5	Marsh 3b	Sí	Sí	Marsh 3b
64/F	Dolor y distensión abdominal, diarrea y pérdida de peso. Familiaridad	36,9	DQ2.2	Marsh 3a	Sí	Sí	Normal

a-PDG, anticuerpo anti-péptido deamidado de gliadina. M, masculino. F, femenino. NR, no realizado.
^a, la respuesta analítica se refiere a la negativización del anticuerpo.

4. Individuos seronegativos

Dentro de los 172 pacientes que han acudido a la consulta específica de EC que forma parte del Servicio de Aparato Digestivo del HCSC se identificaron 36 pacientes (21%) con serología negativa pero con elevada sospecha de EC. Tras la realización de la biopsia y del genotipado HLA, se diagnosticaron 6 (3,5%) individuos con EC seronegativa, todos con resultados compatibles en ambas pruebas. Es importante resaltar que uno de los pacientes presenta condiciones que hicieron que su serología resultara negativa, la paciente presenta DIgA e inmunodeficiencia funcional de anticuerpos. Las características de los 7 pacientes se muestran en la Tabla 22.

Tabla 22. Características de pacientes con EC seronegativa.

Edad/Sexo	Clínica	Biopsia	HLA	Respuesta a la DSG		Observaciones
				Clínica	Biopsia	
50/F	Dolor abdominal, ferropenia	Marsh 3b	DQ8	+	NR	-
44/F	Dispepsia, ferropenia	Marsh 3a	DQ2.5	+	Normal	-
56/F	Ferropenia, familiaridad	Marsh 1	DQ8	+	Marsh 3b	La primera biopsia se consideró de afectación parcheada
34/M	Aftas orales, DA, diarrea	Marsh 2	DQ2.2	+	Normal	
70/F	Diarrea, tenesmo, ferropenia, déficit de vitamina B12	Marsh 3a	DQ8	+	Normal	
50/F	Abortos frecuentes, dolor abdominal, ferropenia	Marsh 3a	DQ2.5	+	Normal	DlgA/ID funcional

DSG, dieta sin gluten. F, femenino. M, masculino. NR, no realizado. DlgA, déficit selectivo de inmunoglobulina A. ID, inmunodeficiencia.

5. Estudio de validez diagnóstica

Recogimos los datos de 2.874 determinaciones realizadas en el Servicio de Inmunología correspondientes a 6 meses (Enero - Junio 2014). Del total de las determinaciones, 1.188 correspondían a individuos que acudieron para diagnóstico de la enfermedad, que fueron las que se tuvieron en cuenta para obtener los valores de cada índice.

Con respecto al anticuerpo a-TG2-GL (Aesku), en la Tabla 23 se muestran los resultados y el diagnóstico de las 1.188 muestras.

Tabla 23. Resultados del anticuerpo a-TG2-GL.

	EC	NO EC	Totales
a-TG2-GL positivo	6	45	51
a-TG2-GL negativo	0	1.137	1.137
Totales	7	1.181	1.188

a-TG2-GL, anticuerpo anti- transglutaminasa 2 y péptidos modificados de gliadina. EC, enfermedad celíaca.

De acuerdo a los resultados de nuestras determinaciones, los valores que obtuvimos fueron los siguientes: especificidad 96%, sensibilidad 100%, VPP 11,8% y VPN 100%. Al calcular las razones de probabilidad positiva y negativa, los valores obtenidos fueron 25 y 0, respectivamente; y la probabilidad pre-test fue de 0,5%.

Con respecto al anticuerpo a-PDG (Euroimmun), en la Tabla 24 se muestran los resultados y el diagnóstico de las 1.188 muestras.

Tabla 24. Resultados del anticuerpo a-PDG.

	EC	NO EC	Totales
a-PDG positivo	5	13	18
a-PDG negativo	2	1.168	1.170
Totales	7	1.181	1.188

a-PDG, anticuerpo anti-péptido deamidado de gliadina.
EC, enfermedad celíaca.

De acuerdo a los resultados de nuestras determinaciones, los valores obtenidos fueron los siguientes: especificidad 99%, sensibilidad 71%, VPP 28%, VPN 99%. Las razones positiva y negativa resultaron de 66 y 2,9, respectivamente; y la probabilidad pre-test fue de 0,5%.

Esos índices también los calculamos para el anticuerpo EMA (Immco). En la Tabla 25 se muestran los resultados y el diagnóstico de las 1.188 muestras.

Tabla 25. Resultados del anticuerpo EMA.

	EC	NO EC	Totales
EMA positivo	6	0	6
EMA negativo	0	1.182	1.182
Totales	6	1.182	1.188

EMA, anticuerpo anti-endomisio.
EC, enfermedad celíaca.

De acuerdo a los resultados de nuestras determinaciones, los valores fueron los siguientes: especificidad 100%, sensibilidad 100%, VPP 100% y VPN 100%. Los valores correspondientes a las razones positiva y negativa no se pudieron calcular dado que

existía un 0 en el denominador o en el numerador, respectivamente. La probabilidad pre-test también fue de 0,5%.

Como se comentó previamente, el único valor que se puede considerar real es el VPP, en cambio los valores de sensibilidad, especificidad y VPN corresponden a valores relativos, puesto que los individuos que resultaron negativos no continuaron estudio, habiéndoseles descartado la enfermedad sólo con la negatividad de la serología. Sin embargo, los VPP están afectados por la baja prevalencia de la EC.

6. Estudio comparativo

En el estudio comparativo las muestras utilizadas se seleccionaron en base a que habían resultado positivas para el anticuerpo a-TG2-GL (Aesku) utilizado en el Servicio de Inmunología del HCSC, independientemente del resultado de los anticuerpos a-PDG y EMA. De los 73 sueros seleccionados uno correspondía a un paciente que falleció antes de obtener el diagnóstico final, por lo que se tuvieron en cuenta los resultados de los 72 individuos restantes. Del total de la muestra, 21 individuos (29,2%) recibieron el diagnóstico de EC (basado en la presencia de clínica, histología y genética compatible), 3 individuos (4,2%) fueron diagnosticados de EC potencial, a 17 pacientes (23,6%) se les descartó la enfermedad por no presentar biopsia o genética compatible, y 31 pacientes (43%) permanecen todavía en estudio. Es relevante comentar que dentro de los 21 pacientes con EC diagnosticada todos ellos

presentaban biopsia compatible con EC. Entre ellos, todos los individuos resultaron ser EMA positivo salvo 6 (28,6%), que resultaron negativos frente al EMA.

Por limitaciones en los reactivos y en la cantidad de suero de cada individuo, no se pudo analizar la misma cantidad de sueros para todos los kits, sólo Bio-Rad analizó la misma cantidad que Aesku (72 muestras), Inova y Euroimmun analizaron sólo 51 sueros de pacientes, lo cual dificulta el análisis y las conclusiones a obtener. En la Tabla 26 se muestran los resultados positivos de cada casa comercial para los diagnosticados de EC.

Tabla 26. Resultados positivos tras el análisis de pacientes celíacos con a-TG2-GL positivo con diferentes kits de anticuerpo a-TG2.

	Bio-Rad		Inova		Euroimmun	
	N	%	N	%	N	%
EC EMA +	10/15	66,6	11/13	84,6	9/13	69,2
EC EMA -	1/6	16,6	1/4	25,0	1/4	25,0

EC, enfermedad celíaca. EMA, anticuerpo anti-endomisio.

Con respecto a los resultados observados, entre los individuos diagnosticados como celíacos utilizando como referencia al anticuerpo a-TG2-GL, encontramos que el kit de INOVA es el que más celíacos diagnosticaría, seguido por Euroimmun y luego Bio-Rad, sin embargo las tres casas comerciales que participaron detectaron el mismo paciente EC EMA negativo. Tres individuos fueron diagnosticados como EC potencial, y encontramos que INOVA no detectó ninguno de estos pacientes, Bio-Rad y Euroimmun resultaron positivos para un paciente cada uno, que no era el mismo individuo. En los pacientes diagnosticados como NO EC, encontramos que Bio-Rad e Inova presentaron

un 0% de falsos positivos, en cambio Euroimmun al igual que Aesku presentaron valores similares de falsos positivos, 22,2% y 23,6% respectivamente. Los 31 individuos restantes permanecen en estudio, pero parece probable que no sean celíacos.

Con respecto al anticuerpo a-PDG, en la Tabla 27 se muestran los resultados positivos de cada kit comercial en base al diagnóstico realizado con el kit de a-TG2-GL. La cantidad de muestras analizadas fue igual para las casas comerciales de Bio-Rad y Euroimmun, pero en el caso de Aesku se analizó un menor número de muestras por el mismo motivo nombrado anteriormente.

Tabla 27. Resultados positivos tras el análisis con los diferentes kits de anticuerpo a-PDG en los diagnosticados como EC.

	Euroimmun		Bio-Rad		Aesku	
	N	%	N	%	N	%
EC EMA +	6/15	40,0	8/15	53,3	6/12	50,0
EC EMA -	0/6	0	1/6	16,6	1/4	25,0

EC, enfermedad celíaca. EMA, anticuerpo anti-endomisio.

El kit de Euroimmun sólo resultó positivo para 6 (40%) pacientes EC EMA positivo y ningún EC EMA negativo. Bio-Rad resultó positivo en 8 de los 15 individuos con EC EMA positivo (53,3%) y en un paciente con EC EMA negativo; por último, Aesku resultó positivo en 6 (50%) de los 12 sueros diagnosticados como EC EMA positivo y en un individuo con EC EMA negativo, el mismo que lo fue para Bio-Rad. Sólo Euroimmun presentó 2 resultados falsos positivos.

De los 27 controles sanos utilizados en el estudio, correspondientes a individuos sin antecedentes personales y/o familiares de enfermedades relacionadas

con el sistema inmunitario, 25 de las muestras resultaron negativas para todos los anticuerpos (a-TG2-GL, a-TG2 y a-PDG), una muestra resultó positiva sólo para el kit de Aesku y otra muestra resultó positiva para todos los kits, aunque no se pudieron obtener datos clínicos del individuo para comprobar si podía presentar EC no diagnosticada.

Casos clínicos

Caso nº1

Paciente caucásica, de procedencia y ascendencia española, de sexo femenino y de 40 años de edad, diagnosticada de EC tras varios años con síntomas no filiados. Su historia clínica comienza en la adolescencia con anemia ferropénica, recibiendo tratamiento con hierro durante muchos años. Posteriormente hasta el año 2013, presenta síntomas inespecíficos de patología digestiva (cambio del ritmo intestinal, dispepsia) junto con fatiga crónica, y abortos de repetición. En las analíticas que presenta la paciente se observa como única alteración anemia ferropénica. En el año 2011 su médico de atención primaria solicitó por primera vez los anticuerpos específicos de celiaquía (a-TG2 y a-PDG), que resultaron negativos con niveles de inmunoglobulinas que resultaron normales, descartando de esta manera la enfermedad.

En el año 2013, comienza con pérdida de peso inintencionada (10 kg en un mes), intolerancia alimentaria, dolor abdominal severo y náuseas. La paciente era refractaria a los tratamientos que recibía por lo cual fue derivada al especialista en

Aparato Digestivo, quien ante la valoración general del cuadro clínico de la paciente decide iniciar nuevamente el estudio de EC repitiendo el test serológico, aunque los anticuerpos continuaban siendo negativos. Sin embargo, el test genético confirmó la presencia de los alelos que codifican la molécula HLA-DQ8 y se le realizó biopsia duodenal objetivando atrofia moderada de las vellosidades. Como parte del diagnóstico diferencial, se descartaron varias entidades relacionadas con el desarrollo de atrofia vellositaria, como por ejemplo *sprue-like* inducido por medicación (olmesartán, micofenolato de mofetilo, metotrexato), no tenía historia de viaje reciente y sus niveles de inmunoglobulinas eran normales. Ante esto, la paciente fue diagnosticada de EC iniciando una DSG estricta. Tras 6 meses en DSG, se quedó embarazada sin problemas. Actualmente, con el seguimiento de una DSG estricta, la paciente refiere la desaparición completa de toda la sintomatología junto con embarazo a término.

Caso nº2

Hombre de 28 años de edad, hermano de la paciente del caso nº1, fue estudiado y diagnosticado de celiaquía por familiaridad. Su historia clínica comienza en la infancia con intolerancia a la proteína de la leche de vaca hasta los 10 años de edad. Durante su adolescencia continuó con síntomas gastrointestinales que incluían crisis de dolor abdominal, distensión abdominal, diarrea frecuente y fatiga crónica. Luego del diagnóstico de su hermana, en Junio de 2014, inició el estudio para diagnóstico de EC. Al igual que su hermana, el paciente presentaba genética compatible (HLA-DQ8), y también resultó negativo para el anticuerpo a-TG2. En los meses siguientes, el paciente

continuó con síntomas y sin prescripción de tratamiento. A inicios de Enero de 2015, se le realizó una endoscopia superior con toma de biopsia y en vista de su situación clínica el paciente decide iniciar por cuenta propia una DSG estricta. En la biopsia duodenal se objetivó la presencia de atrofia vellositaria moderada. Tras más de 6 meses en DSG, el paciente refiere una mejoría considerable en su condición clínica y calidad de vida, con resolución de sus síntomas.

➤ Comentario casos n°1 y n°2

Recibimos muestras de suero de los dos casos clínicos descritos con fines de investigación y analizamos ambos sueros con el kit Aesku que detecta a-TG2-GL. Los dos individuos resultaron positivos para ese anticuerpo con los siguientes valores: 25,8 UA/ml para el caso 1 y 27 UA/ml y para el caso 2, manteniendo gluten en su dieta. Se analizó una nueva muestra de suero del caso 1 tras 4 meses en DSG resultando negativa para este anticuerpo.

Caso n°3

Paciente caucásico de 56 años de edad con antecedentes personales de diabetes mellitus tipo 1 (DM1) diagnosticada a los 27 años de edad. En el año 2009, veintitrés años después, el paciente inicia con mal control de la glucemia, elevación de la hemoglobina glucosilada (HbA1c) y fatiga. En Enero de 2010, es diagnosticado de hipotiroidismo autoinmune con positividad de anticuerpos anti-tiroperoxidasa. En Mayo del mismo año, a pesar del tratamiento hormonal de reemplazo, el paciente

continuaba con mal control de la DM1 y difícil control de sus hormonas tiroideas. Tres meses después, el paciente inició con diarrea severa, dispepsia, importante pérdida de peso y anemia. Los marcadores tumorales fueron negativos. En Septiembre se observó un leve aumento de las enzimas hepáticas. Se le realizaron al paciente numerosas pruebas diagnósticas, entre las que se encontraban: ecografías abdominales, una eco-endoscopia, una tomografía computada (TC), un PET-TC (tomografía por emisión de positrones) y una colangio-resonancia; todas resultaron normales. A fines del 2010, por primera vez se consideró que la EC podría ser la causa de su condición clínica, pero fue descartada tras la negatividad del anticuerpo a-TG2. Estudios microbiológicos en heces resultaron negativos, sin embargo la condición clínica del paciente iba empeorando gradualmente, ante lo cual fue referido al Servicio de Aparato Digestivo del HCSC. En Enero de 2011, recibimos al paciente con importante empeoramiento en su condición clínica, severa desnutrición proteico-calórica y déficit de vitaminas. Se le realizó una nueva determinación para anticuerpos específicos de EC, resultando el anticuerpo a-TG2-GL IgA positivo, aunque EMA negativo (Tabla 28), y el test genético reveló la presencia de los alelos que codifican la molécula HLA-DQ2.5 (*DQB1*02-DQA1*05*). La colonoscopia y gastroscopia resultaron normales, pero en la biopsia duodenal se objetivó daño compatible con EC (Figura 17), iniciando el paciente DSG estricta a finales de Enero. En el mismo análisis inmunológico se encontraron anticuerpos antinucleares (ANA) positivos a título moderado. A comienzo de Marzo de 2011, tras iniciar la DSG, el paciente refería mejoría en su estado clínico, sin presentar diarrea, aunque continuaba con moderada desnutrición proteico-calórica. En ese mes, fue ingresado en el hospital para completar el estudio de su hipertransaminasemia. En

su examen físico se objetivó la presencia de ictericia conjuntival, el abdomen era blando no doloroso a la palpación y sin signos de hepatomegalia. Los valores de laboratorio al ingreso mostraron una hepatitis aguda (Tabla 28). El paciente no presentaba antecedentes personales de abuso de sustancias, alcohol o medicinas alternativas, tampoco refería historial de riesgo para hepatitis virales, aún así se realizó la serología para hepatitis A, B y C que resultaron negativas, al igual que el estudio del HIV. En vista de su hipertransaminasemia y de la positividad para ANAs, la principal sospecha fue de hepatitis autoinmune (HAI), que se confirmó en Abril de 2011 tras la realización de una biopsia hepática (Figura 17), iniciándose tratamiento con prednisona y azatioprina. A partir de ese momento, la respuesta a la DSG fue más relevante, con ganancia de peso, resolución de su desnutrición, de los niveles de hemoglobina, buen control de sus tratamientos hormonales de reemplazo y negativización del anticuerpo a-TG2-GL (Tabla 28). El paciente fue diagnosticado de síndrome poliglandular autoinmune (SPA) tipo 3, compuesto por 4 enfermedades relacionadas con el sistema inmunitario: DM1, hipotiroidismo autoinmune, EC y HAI. Actualmente, el paciente es seguido en la consulta específica de EC en coordinación con el Servicio de Endocrinología, ambos del HCSC, se encuentra asintomático y refiere una gran mejoría en su calidad de vida.

Tabla 28. Resultados de los diferentes análisis realizados al paciente del caso nº3 en Enero y Marzo de 2011.

Bioquímica (valores normales)	Enero 2011	Marzo 2011
ALT (U/L) (5-40)	499	366
AST (U/L) (5-40)	253	336
GGT (U/L) (1-55)	353	1456
Fosfatasa alcalina (U/L) (30-120)	303	1.101
Bilirrubina total (μmol/L) (0,2-1,2)	1,1	4,4
Bilirrubina directa (μmol/L) (0-0,03)	NT	2,25
Albúmina (g/dL) (3,2-5,5)	3,2	2,4
Cobre (μg/dL) (70-140)	112	NR
Ceruloplasmina (mg/dL) (20-40)	21,7	NR
LDH (U/L) (240-480)	786	1.064
Serología (puntos de corte)		
ANAs (>1/100)	1/160	NR
a-TG2-GL (UA/mL) (>20)	58,1	NR
a-PDG (UR/mL) (>25)	Negativo	NR
EMA (>1/5)	Negativo	NR
TPO (UI/mL) (>75)	76,3	NR
TG (UI/mL) (>150)	Negativo	NR

NR, no realizado. ALT, alanina aminotransferasa. AST, aspartato aminotransferasa. GGT, gamma glutamil transferasa. LDH, lactato deshidrogenasa. ANA, anticuerpos anti-nucleares. a-TG2-GL, anticuerpo anti-transglutaminasa 2 y péptidos modificados de gliadina. a-PDG, anticuerpo anti-péptidos deamidados de gliadina. EMA, anticuerpo anti-endomisio. TPO, anticuerpo anti-tiroperoxidasa. TG, anticuerpo anti-tiroglobulina.

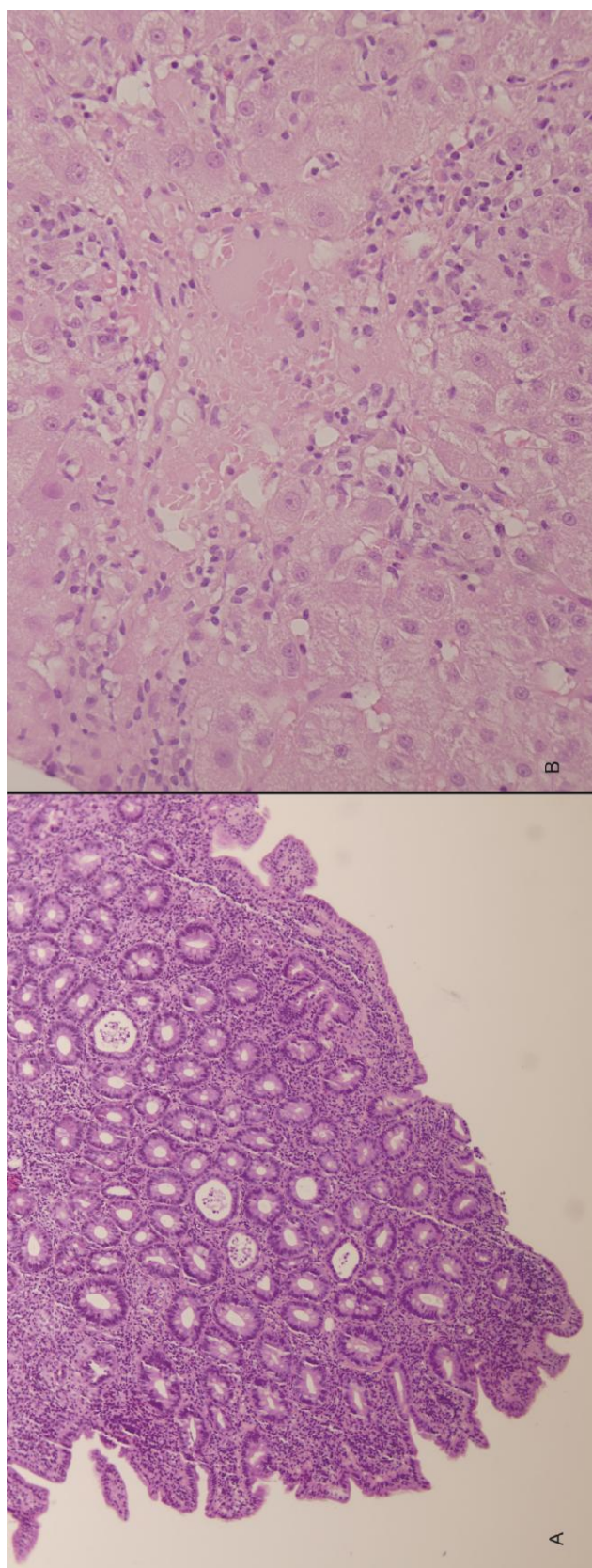


Figura 17. Imágenes histológicas de biopsias de duodeno e hígado del caso nº3.

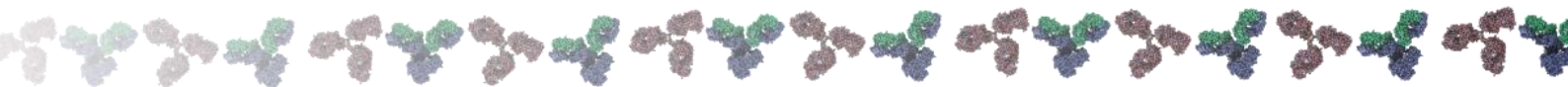
A) Mucosa duodenal en donde se observa disminución de la altura de la vellosidades, hiperplasia de las criptas y linfocitosis intraepitelial ($>30/100$ enterocitos); compatible con el grado 3b de la clasificación de Marsh-Oberhuber. B) Biopsia hepática que muestra hepatitis de interfase moderada con moderado infiltrado inflamatorio crónico y focos de necrosis; compatible con hepatitis crónica de etiología autoinmune y un valor de 3431 en la escala de Knodell.

➤ Comentario caso n°3

El SPA tipo 3 se caracteriza por la presencia de enfermedad tiroidea autoinmune y por lo menos una enfermedad autoinmune órgano-específica, como DM1 (tipo 3a), anemia perniciosa, EC o HAI (tipo 3b) o vitiligo, alopecia o miastenia gravis (tipo 3c), sin afectación de la glándula suprarrenal. En el caso n°3, el paciente desarrolló un SPA tipo 3a (DM1 y enfermedad tiroidea autoinmune) complicado con EC y HAI. No existe consenso respecto a la estrategia de cribado serológico de EC en adultos con DM1, pero en niños algunas guías clínicas recomiendan iniciar el estudio al momento del diagnóstico de la DM1, anualmente durante los primeros cinco años de diagnóstico y luego cada dos años o más frecuentemente en caso de sospecha clínica o familiar de primer grado con la enfermedad. Se evita o reduce, de esa manera, un retraso en el diagnóstico y las complicaciones que conlleva el inicio tardío de la DSG. A este paciente se le realizaron numerosas pruebas diagnósticas que podrían haberse evitado de no haber descartado la EC frente a una serología negativa, puesto que se ha publicado que la frecuencia de esta puede llegar hasta el 22% entre todos los celíacos diagnosticados. Además, no se le realizó el cribado serológico de ninguna enfermedad autoinmune hasta que ya presentó síntomas severos. La DSG estricta es el único tratamiento aceptado en la EC, efectivo para mejorar la calidad de vida del paciente y evitar complicaciones, incluso se ha sugerido que puede prevenir el desarrollo de otras enfermedades autoinmunes. A pesar de que no es posible aseverarlo por completo, la HAI desarrollada por el paciente podría haberse evitado con un diagnóstico temprano e inicio de una DSG estricta, con lo que a su vez se hubiera prevenido el estado de malnutrición severa que padeció el paciente. Considerando su historial clínico y las

cuatro enfermedades autoinmunes que presentaba: DM1, ETAI, EC y HAI, se concluyó que su condición formaba parte de un SPA tipo 3 con características del subtipo a y del b.

DISCUSSION



La EC es una enfermedad autoinmune con una prevalencia creciente a nivel mundial. Su etiología es multifactorial, participando en su desarrollo tanto factores genéticos como ambientales. En ciertos individuos predispuestos genéticamente, la ingesta de alimentos que contienen gluten (factor ambiental por excelencia) desencadena un proceso inflamatorio a nivel de la mucosa duodenal, produciendo como consecuencia atrofia de las vellosidades intestinales. Durante ese proceso inflamatorio se producen además anticuerpos frente a una enzima propia, la TG2. La asociación genética más fuerte con el riesgo a desarrollar la enfermedad corresponde a la presencia de las combinaciones alélicas HLA-DQ2 (*DQA1*05-DQB1*02*) y HLA-DQ8 (*DQA1*03-DQB1*03:02*), que aparecen en la gran mayoría de los pacientes celíacos.

El diagnóstico de la EC se basa en la concordancia de ciertos criterios bien definidos, entre los que se incluyen la sospecha clínica de la enfermedad y la presencia de auto-anticuerpos específicos, de los haplotipos de riesgo y del daño duodenal característico. En muchas ocasiones se llega de manera directa al diagnóstico final (Figura 18). Sin embargo existen situaciones en los que el diagnóstico resulta difícil de obtener, debido a que no se cumplen todos los criterios, situación bastante frecuente en la práctica clínica diaria.

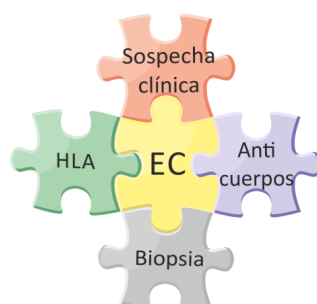


Figura 18. Diagnóstico de la EC.

A pesar del continuo avance en el conocimiento de esta patología y del aumento de la prevalencia a nivel mundial, la EC continúa siendo considerada una enfermedad infra-diagnosticada, lo cual se encuentra representado en la parte oculta del iceberg celíaco. Este infra-diagnóstico se debe a múltiples condicionantes, conocidos y no conocidos, que influyen directamente sobre el diagnóstico. Uno de éstos corresponde al espectro clínico que puede presentar la enfermedad, con gran variabilidad de síntomas y signos, algunos de ellos inespecíficos como cefalea, artralgias, mal control del tratamiento de otra enfermedad autoinmune, diarrea (frecuentemente asociada a infección) o dolor abdominal. Esta sintomatología también puede encontrarse en muchas otras patologías, haciendo que en ocasiones no se tenga en cuenta la celiaquía como la causante de la clínica del paciente. Respecto a los métodos diagnósticos, estos también constituyen factores que puede generar confusión, puesto que no existe una prueba que represente el *gold standard* en el diagnóstico de la enfermedad. El test genético sólo sirve por su valor predictivo negativo, debido a que aproximadamente el 40% de la población sana presenta las moléculas de riesgo (HLA-DQ2/DQ8), además hay que tener en cuenta que es una prueba costosa y que no se encuentra disponible en todos los laboratorios. La biopsia, por su parte, puede presentar en ocasiones dificultades en su análisis por problemas de orientación y por el hecho de que las lesiones producidas por la EC pueden ser parcheadas, además de que no se consideran patognomónicas de la enfermedad. En ocasiones la endoscopia suele ser rechazada por el mismo paciente por temor al procedimiento. Respecto a los anticuerpos específicos de celiaquía, es importante conocer las limitaciones que presentan, como la falta de estandarización de los kits

disponibles o las condiciones asociadas del individuo que puedan alterar su resultado (inmunodeficiencias, afectación hepática, bajo consumo de gluten). Todo ello hace que el diagnóstico de la enfermedad sea algo complejo, por lo que se deben tener en cuenta muchas variables para una correcta interpretación de las pruebas.

Uno de los objetivos más buscados en la actualidad se centra en tratar de reducir el iceberg celíaco y favorecer el diagnóstico del creciente número de casos atípicos y seronegativos. En este sentido, aún quedan numerosos puntos por esclarecer, entre ellos qué hace tan particulares a estos individuos, cuáles son sus características principales, etc. Frente a esta problemática es evidente que se necesitan nuevas y mejores herramientas diagnósticas. En este trabajo nos planteamos intentar reducir parte de la fracción oculta del iceberg celíaco, intentando conocer mejor las características de los pacientes celíacos clasificados en base a sus resultados serológicos y contribuir de esa manera a mejorar el diagnóstico de la enfermedad. Con ese objetivo realizamos un estudio retrospectivo basándonos en las muestras recibidas en el Servicio de Inmunología Clínica del HCSC, las cuales fueron clasificadas en cuatro grupos según los resultados de las pruebas serológicas de diagnóstico de EC. El grupo de individuos negativo frente al EMA pero positivo frente al a-TG2-GL de tipo IgA fue el estudiado en mayor profundidad por la escasez de datos en la literatura y la posibilidad de que permitiese el diagnóstico de pacientes con características poco frecuentes en los que de acuerdo a los actuales criterios diagnósticos sería muy probable que se descartase la EC.

Tras el análisis de los datos encontramos un grupo particular de individuos celíacos que resultaron seronegativos para los anticuerpos convencionales (EMA y a-

TG2) pero presentaron serología positiva frente al anticuerpo a-TG2-GL. Este grupo representa aproximadamente el 15% de todos los individuos con diagnóstico de EC en el periodo evaluado. Al comparar estos pacientes con una muestra de 100 individuos celíacos con EMA positivo, no se encontraron diferencias significativas respecto a la sintomatología presentada al considerar la población pediátrica. Los porcentajes de los síntomas y signos presentados en ambos grupos, coincide con los descritos por la ESPGHAN ²¹, pero llama la atención la elevada frecuencia (17%) de pacientes con síndrome de Down en el grupo EC EMA negativo, superior al 5% publicado de EC EMA positivo con síndrome de Down ⁹³. Aún así, es necesario realizar un estudio enfocado en este tema para poder obtener conclusiones más definitivas al respecto. En individuos adultos EMA negativo encontramos un elevado porcentaje de pacientes con anemia ferropénica e hipertransaminasemia, significativamente diferente al grupo de individuos adultos EMA positivo ($p=0,009$ y $p=0,035$, respectivamente).

En cuanto a los niveles séricos de a-TG2-GL, sí observamos una diferencia significativa entre los niños/adolescentes EMA negativo diagnosticados de EC con respecto al resto de pacientes (NO EC y DI), aún así, el nivel promedio correspondía a valores medios (<200 UA/mL). Esa diferencia no se observa al considerar la población adulta. Es importante tener en cuenta que existe una diferencia de manejo de ambas poblaciones (pediátrica y adulta), puesto que a la mayoría de los pacientes adultos se les realiza una endoscopia (independientemente del nivel de anticuerpo), pero un niño con niveles bajos de a-TG2-GL es poco probable que se someta a una endoscopia digestiva superior con toma de biopsia. Por tanto, muy probablemente esas diferencias entre niños y adultos corresponden a un sesgo en el diagnóstico, ya que el valor de los

a-TG2-GL en niños sometidos a biopsia es significativamente mayor respecto a los niveles de los niños sin biopsia realizada ($118,9 \pm 15,4$ UA/mL vs $71,6 \pm 9,3$ UA/mL, respectivamente, $p=0,01$). Cuando se compara frente a los pacientes celíacos con EMA positivo (todos con biopsia realizada), los niveles de anticuerpos a-TG2-GL y a-PDG en niños son significativamente superiores ($p<0,001$) en el grupo con EMA positivo ($253,9 \pm 11,7$ UA/mL vs $157 \pm 27,8$ UA/mL y $168,5 \pm 16,5$ UR/mL vs $89,7 \pm 37,5$ UR/mL, respectivamente).

Al analizar los datos de las biopsias, encontramos en nuestro conjunto de individuos EMA positivo lesiones Marsh 3b y 3c, siendo éstas las únicas lesiones encontradas en niños y las más frecuentes en adultos, incluso un individuo adulto fue diagnosticado presentando Marsh 4. En el grupo de pacientes EMA negativo la lesión predominante fue el Marsh 3a (49%), pero también se encuentran representadas el resto de lesiones, con igual frecuencia de Marsh 2 y Marsh 3c (ambas un 9%).

Si bien todos nuestros individuos pediátricos y la mayoría de los adultos presentaron lesión compatible con la clasificación de Marsh-Oberhuber, encontramos cuatro individuos dentro del grupo de adultos en los que el diagnóstico fue particularmente difícil puesto que la biopsia fue informada como no compatible. Dos de ellos presentaron al momento del diagnóstico duodenitis crónica inespecífica, coincidiendo con esto, recientemente se publicó un estudio que si bien se realizó en niños, describe que el diagnóstico más encontrado dentro de la duodenitis crónica inespecífica es la EC (32%) ¹⁶⁵. En los otros dos individuos la biopsia duodenal fue informada como normal, siendo diagnosticados igualmente de EC gracias al análisis de la misma por citometría de flujo, donde se objetivó un aumento de LT $\gamma\delta$ y disminución

de los CD3⁺, compatible con la enfermedad. Esto nos lleva a recordar que la lesión histológica de la EC es parcheada. Además, la toma de biopsia duodenal suele hacerse de las partes distales del duodeno, sin embargo existen pacientes celíacos que sólo presentan daño a nivel del bulbo duodenal. En un estudio publicado por Gidrewicz *et al.*¹³⁹, encontraron que un 10% de pacientes celíacos fueron diagnosticados por presentar daño sólo a nivel del bulbo y de esos un 24% correspondía a pacientes con EMA negativo.

A pesar de las características encontradas en cuanto a clínica, anticuerpos y biopsia, lo más relevante fue encontrar dentro de este conjunto de celíacos seronegativos frente al EMA (niños y adultos) una frecuencia de DQ2.5 de sólo el 51% y dentro de los individuos no HLA-DQ2 un 19% de HLA-DQ8, significativamente inferior al 61% de DQ8 de los EC EMA positivo, y un elevado porcentaje de individuos (37,5%) que presentaban el alelo *DQA1*05*, también significativamente diferente en comparación con el grupo de EC diagnosticados con una a-TG2 convencional. Estas cifras difieren bastante de lo publicado y aceptado en relación a la frecuencia observada en cuanto a los haplotipos asociados con la enfermedad, lo que podría deberse en parte a que en muchas ocasiones cuando un paciente no presenta las moléculas HLA-DQ de riesgo genético conocidas y aceptadas, la EC no es considerada como un posible diagnóstico.

Nuestro grupo de individuos EMA negativo es reducido y no podemos obtener conclusiones definitivas sobre la diferencia de la EC entre sexos, pero parece llamativo que entre los pacientes DQ7.5 el *ratio* 2:1 se invierte, siendo más frecuente la EC en hombres que en mujeres. Esto coincidiría con lo publicado por Megiorni *et al.*⁶¹, que

encuentran que dentro de los celíacos las mujeres presentan más frecuentemente las moléculas DQ2 o DQ8, pero cuando se presenta sólo el alelo *DQA1*05* el sexo predominante es el masculino. Aún así, hacen falta más estudios al respecto para establecer conclusiones sobre este tema.

El genotipado HLA es uno de los pilares sobre los que se basa el diagnóstico de la EC, puesto que las moléculas HLA-DQ son las encargadas de presentar los péptidos de gluten a los LT CD4⁺, desencadenando la respuesta inmunitaria. Aún así, es importante tener en cuenta que la patogenia hasta hoy descrita se conoce sólo parcialmente, y está basada principalmente en el comportamiento de la molécula HLA-DQ2.5, la cual se une a una gran cantidad de péptidos inmunodominantes de gluten, resultantes de la deamidación producida por la TG2. La frecuencia, hasta ahora conocida y aceptada, de las moléculas HLA-DQ corresponde a un 90% para el DQ2.5 (*cis* o *trans*), 8-10% para DQ8 y los que no son portadores de esos haplotipos de susceptibilidad presentan una sola cadena del heterodímero DQ2, normalmente *DOB1*02* (DQ2.2) y en pocos casos *DQA1*05* (DQ7.5) ^{54, 60-62}. El rol del alelo *DQA1*05* en la patogénesis de la enfermedad es controvertido y no está globalmente aceptado. Sin embargo, existen algunos estudios que mencionan su asociación con la enfermedad. Uno de los más relevantes fue un estudio europeo multicéntrico publicado en el año 2003 por Karell *et al.* ⁵⁴, en donde se observó que los individuos celíacos que no eran DQ2.5 o DQ8, llevaban en su mayoría la molécula DQ2.2 (67%) y en menor proporción la molécula DQ7.5 (26%). En poblaciones italianas, el alelo *DQA1*05*, ya se ha sugerido como haplotipo de riesgo, en el año 2009 con una frecuencia del 2% ^{61, 62} y recientemente al sur de Italia se describió una frecuencia de

pacientes celíacos no DQ2/DQ8 del 4,2%, siendo el haplotipo DQ7 el más representativo de ese grupo (38% de los individuos no DQ2/no DQ8)¹⁶⁶. Todos estos datos coinciden con el gradiente observado en la población celíaca europea, con una menor frecuencia de DQ2.5 en *cis* y mayor representación de las moléculas *DQB1*02* y *DQA1*05* en las zonas sur del continente⁶⁸.

Respecto a los individuos celíacos que no presentan ningún alelo HLA de riesgo, si bien se trata de un grupo muy pequeño, nuestros pacientes celíacos se encontrarían en concordancia con los hallazgos descritos por varios autores; puesto que se ha visto que la molécula DQ5 (*DQB1*05*) y la molécula DQ6 (*DQB1*06*) son las más encontradas en esta pequeña población, con una frecuencia del 0,3% y del 0,4%, respectivamente^{54, 61, 62, 166}.

La mayor frecuencia de celíacos con DQ7.5 en nuestra población, la encontramos en pacientes con positividad frente al anticuerpo a-TG2-GL. Si recordamos brevemente, los péptidos de gluten tras haber sido deamidados por la TG2, adquieren cargas negativas que les confieren una mayor afinidad por las moléculas HLA-DQ2/DQ8, generando una respuesta de LT más fuerte¹⁶. Sin embargo, esa no es la única función de la TG2, esta es una enzima multifuncional que también puede llevar a cabo reacciones de transamidación. En esa reacción se pueden entrecruzar residuos de glutamina y residuos de lisina, formando complejos de péptidos de gliadina/TG2 unidos covalentemente. De esa unión pueden surgir neoepítomos, lo que podría originar diferentes propiedades de unión, y esto podría contribuir a explicar por qué observamos pacientes con moléculas HLA-DQ diferentes a DQ2 y DQ8. Por otro lado, se ha descrito que el *HLA-DQA1*05* presenta afinidad por

péptidos de gluten que no han sido deamidados. En este caso la TG2 no sería necesaria para que se produzca la presentación antigénica y por tanto se podrían formar anticuerpos anti-péptidos de gliadina, pero no frente a a-TG2, lo que explicaría la negatividad del EMA. Además, la tasa de resultados falsos positivos observada al determinar los a-TG2-GL, aunque menor, recuerda a la observada cuando se empleaban kits comerciales que detectaban anticuerpos frente a gliadina nativa.

En concordancia con nuestros hallazgos, a inicios de 2015 Bergseng *et al.*¹⁶⁷ publicaron un estudio donde demostraron que los individuos celíacos no DQ2/DQ8 y que llevan la molécula DQ7.5 también presentan en intestino LT CD4⁺ reactivos frente al gluten y que se unen a péptidos de gliadina que no llevan residuos de glutamato (no presentan carga negativa) al no provenir de la deamidación producida por la TG2. Las diferentes moléculas HLA-DQ de riesgo (DQ2.5, DQ2.2, DQ8 y DQ7.5) se unen a diferentes péptidos derivados del gluten, los cuales aparecen en diferente cantidad, además la afinidad HLA-DQ-péptido de gluten difiere dependiendo de la combinación considerada. Por tanto, los distintos receptores HLA-DQ confieren diferente riesgo a desarrollar la enfermedad, ayudando a explicar el por qué de los distintos niveles de riesgo genético.

La particularidad de los kits a-TG2-GL es que pueden detectar anticuerpos frente a TG2, péptidos de gliadina y posiblemente neoepítotos, no así los kits convencionales, que sólo detectan anticuerpos a-TG2. Por lo general en las guías clínicas actuales, tanto de niños como de adultos, los anticuerpos ocupan el primer escalón del estudio de la enfermedad, recomendándose iniciar el cribado con la detección del anticuerpo a-TG2. La mayoría de las casas comerciales utilizan como

antígeno la enzima TG2 recombinante humana, que presenta una elevada correlación con el anticuerpo EMA. Sin embargo, como hemos visto, esa correlación no se mantiene al emplear kits frente a a-TG2-GL. Existen algunas publicaciones sobre la utilidad del anticuerpo a-TG2-GL de tipo IgA, en uno de ellos se utilizó un kit similar pero de otra casa comercial que también incluye como antígenos TG2 y péptidos de gliadina (Quanta Lite h-tTG/DGP Screen, INOVA Diagnostics, San Diego, EE. UU.). Este estudio fue publicado por Dahle *et al.* ¹¹⁶, quienes encontraron 8/75 individuos (11%) celíacos que resultaron positivos sólo frente a este anticuerpo. Un estudio similar fue publicado por Lytton *et al.* ¹¹⁷, quienes utilizaron el mismo kit que el empleado en nuestro laboratorio pero en pacientes con dermatitis herpetiforme, concluyendo que es un marcador con elevada sensibilidad para detectar EC en estos individuos. Asimismo, se han publicado varios estudios que recomiendan utilizar este auto-anticuerpo debido a su elevada sensibilidad ^{103, 118, 119}. Sin embargo este es el primer estudio que relaciona los datos clínicos, serológicos, genéticos e histológicos de los pacientes celíacos de acuerdo a la positividad de estos anticuerpos de manera conjunta. Se evidencia que estos pacientes con a-TG2-GL positivo y EMA negativo presentan características poco frecuentes como menor lesión histológica y bajo riesgo genético.

Además de los datos expuestos, los casos clínicos citados en la sección de resultados son algunos ejemplos de la utilidad de ese anticuerpo en el diagnóstico. En el primero de ellos, encontramos dos individuos de la misma familia en los que se descartó la EC por carecer de serología positiva convencional. No fue hasta años después, que por medio del estudio histopatológico, se llegó al diagnóstico en la

primera paciente descrita, en quien su retraso en el diagnóstico condujo a una mala calidad de vida y probablemente a los dos abortos que padeció antes de su segundo embarazo a término (aunque esto no puede aseverarse completamente). El segundo individuo inició el estudio de celiaquía tras el diagnóstico de su hermana, aunque presentaba sintomatología desde temprana edad. Ambos pacientes presentaron negatividad frente a a-TG2; pero al ser analizados en nuestro laboratorio, el anticuerpo a-TG2-GL resultó positivo en ambos.

El tercer caso clínico trata de un individuo con factores de riesgo para presentar EC (DM1, enfermedad tiroidea autoinmune y presencia de HLA-DQ2.5), aunque en ningún momento se le realizaron cribados serológicos buscando otras enfermedades autoinmunes. Tras sufrir una severa afección de su situación clínica, se le realizaron numerosas pruebas diagnósticas resultando todas negativas. No fue hasta que es derivado a nuestro hospital, donde en vista de la condición clínica del paciente fue ingresado para estudio, y se le realizó la detección del anticuerpo a-TG2-GL que resultó positivo y a partir del cual se le realiza la endoscopia con toma de biopsia confirmando el diagnóstico de EC. El retraso en el diagnóstico y en el inicio de la DSG condujo a un severo estado de desnutrición con posterior desarrollo de una hepatitis autoinmune, aunque esto último es especulativo.

Respecto al anticuerpo a-PDG de tipo IgG, observamos que en pacientes seronegativos frente al EMA y frente al a-TG2-GL de tipo IgA, estos permiten diagnosticar un bajo porcentaje de individuos (3% en población pediátrica y 1% en adultos). Dado el bajo número de pacientes con estas características no podemos encontrar ninguna particularidad que ayude al diagnóstico. Cabe destacar que ninguno

de los individuos incluidos en ese estudio presentaba alguna condición, como DIgA, que alterara los resultados de los otros anticuerpos.

La mayoría de los pacientes celíacos diagnosticados hasta ahora en la población general (parte superior del iceberg), corresponderían a individuos con una concordancia en los criterios diagnósticos del 100% o próxima a este valor. Esta concordancia ha quedado demostrada en varios estudios, en los que individuos con EMA positivo presentan una fuerte correlación entre los niveles del anticuerpo a-TG2 y el daño histológico producido por la enfermedad, a mayor valor del anticuerpo mayor será la lesión encontrada ^{115, 168, 169}, esto demuestra que el EMA tiene mayor sensibilidad cuanto mayor es la lesión (Marsh 3c) ^{132, 170}. A su vez, también se ha observado un efecto de dosis génica con respecto al alelo *HLA-DQB1*02* y los niveles del anticuerpo a-TG2, encontrándose mayores niveles de anticuerpos en individuos homocigotos para ese alelo ^{171, 172}. Recientemente se ha postulado que los pacientes que presentan elevado riesgo genético (*DQ2.5 cis* o *trans*) presentan lesiones histológicas más severas (Marsh 3c), mientras que las otras posibilidades de lesión histológica se encuentran representadas con menor riesgo genético ^{171, 173}. Frente a esta situación es esperable que se diagnostiquen mayoritariamente individuos que desarrollan una enfermedad típica, que presentan todos los criterios diagnósticos y que en muchas ocasiones este se obtiene fácilmente en las consultas de atención primaria. Sin embargo, el infradiagnóstico asociado con esta enfermedad se explica, en parte, porque dentro de la población médica (atención primaria o médicos no especializados en aparato digestivo o EC) hay muchos que no tienen en cuenta a la EC como posible diagnóstico ¹⁷⁴, un poco por desconocimiento de la variabilidad clínica

que presenta la enfermedad y también por desconocimiento de la gran complejidad que requiere la interpretación de las pruebas diagnósticas o de los actuales algoritmos diagnósticos en algunos casos. A esto hay que sumar aquellos individuos que no presentan todos los criterios y que por lo general son pacientes que van rotando por las consultas de múltiples especialidades sufriendo una importante demora en el diagnóstico. Esa situación de EC sin diagnosticar conduce a que el paciente pueda desarrollar estadios avanzados de la enfermedad, con posibilidad de generar complicaciones, cuando el error inicial fue descartar tempranamente la enfermedad (Figura 19).

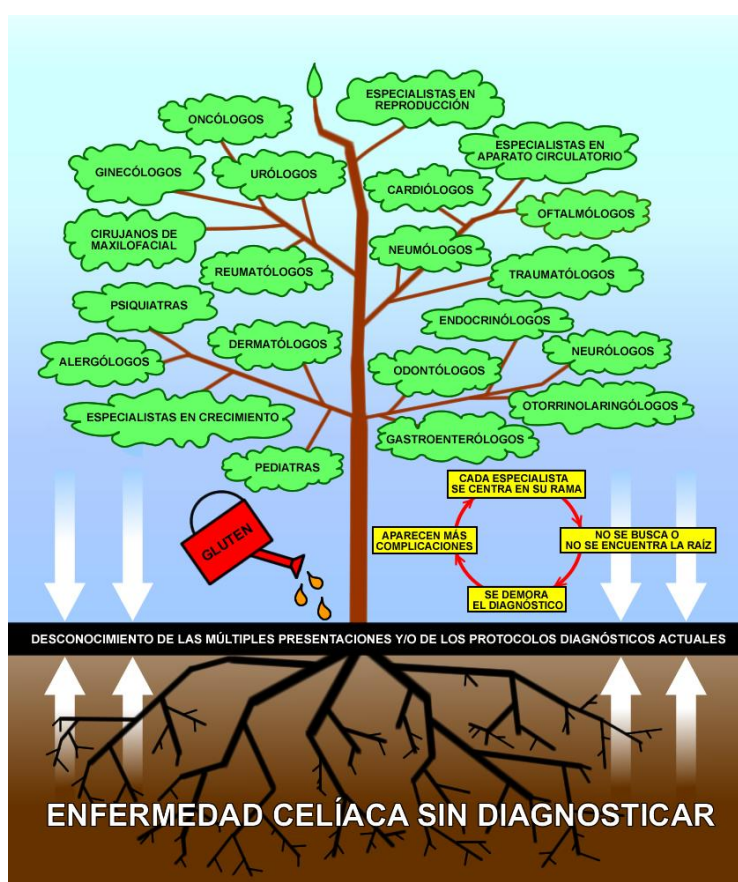


Figura 19. Imagen esquemática del círculo vicioso que se genera en consecuencia de la demora en el diagnóstico.

La existencia de individuos celíacos seronegativos es ya conocida, así como que presentan una elevada complejidad diagnóstica, dependiendo mayoritariamente de la sospecha clínica y de obtener en el estudio histopatológico un resultado compatible con la enfermedad, teniendo en cuenta que se deben descartar otras causas de atrofia vellositaria. La prevalencia de este tipo de pacientes es variable, encontrándose estudios que describen un 11% y otros hasta de un 36% del total de la población celíaca¹²⁹⁻¹³⁵. Hasta el momento no se han encontrado características particulares dentro de este grupo de individuos que haga más fácil su diagnóstico.

En la Tabla 21 (diagnóstico sólo por a-PDG positivo) y en la Tabla 22 (pacientes con EC seronegativa), se muestran ejemplos de pacientes difíciles de diagnosticar en los que se llegó al diagnóstico por la alta sospecha clínica y por cumplir con el *score* propuesto por la ESPGHAN (en el caso de los niños con a-PDG positivo), y la regla '4 de 5' propuesta por Catassi y Fasano en el resto de individuos (adultos con positividad frente a a-PDG y seronegativos). Dentro del grupo de seronegativos, un paciente adulto se encuentra pendiente de la endoscopia con toma de biopsia para comprobar la respuesta a la DSG. En general, observando la Tabla 22, a pesar de que incluye pocos individuos, observamos que las características que presentan son más leves, con lesión histológica de bajo grado y genética de bajo riesgo, al igual que el grupo positivo sólo frente a a-TG2-GL.

El proceso diagnóstico tiene un papel fundamental en la práctica clínica diaria y la información sobre la precisión de los tests diagnósticos es indispensable para tomar decisiones que finalmente beneficien a los pacientes. La aplicación de las guías clínicas y diagnósticas sobre la EC en población pediátrica y adulta, es un tema que compete

no solo a los médicos clínicos, sino también a inmunólogos y analistas de laboratorio, quienes son los que ponen a punto las diferentes técnicas de laboratorio, interpretan los anticuerpos por IFI, etc. Es por eso que una de las recomendaciones, es que los laboratorios deben evaluar el kit de a-TG2 que dispongan mediante estudios de validez diagnóstica para evitar un manejo inadecuado o una mala interpretación de sus resultados. El rendimiento de un test diagnóstico se expresa en los valores de los siguientes índices: sensibilidad, especificidad, VPP, VPN, las razones de probabilidad positiva y negativa y la probabilidad pre-test. Comúnmente se acepta que la situación ideal es tener un kit con una elevada sensibilidad y especificidad, sin embargo hay que tener en cuenta que se debería realizar un análisis de todos estos índices en conjunto, puesto que analizarlos separadamente puede conducir a errores en la interpretación de los mismos. Además de que los VPP, VPN y la probabilidad pre-test, son valores variables que dependen de la prevalencia de la enfermedad en la población; no así, las razones de probabilidad positiva y negativa al igual que la sensibilidad y especificidad, que se consideran características propias del kit.

Al analizar nuestros resultados, tuvimos que asumir como “verdaderos negativos”, es decir “verdaderos no EC”, a todos aquellos individuos que resultaron negativos para el test serológico sin biopsia realizada. Esto constituye un sesgo que influye en el resultado obtenido de los índices anteriormente nombrados, por lo cual esos valores que obtuvimos son “relativos”; a excepción del VPP cuyo resultado es un valor real, puesto que no influyen en su cálculo los individuos que corresponden a falsos o verdaderos negativos. Sin embargo, la baja prevalencia de la EC conduce a valores bajos de VPP.

En nuestro estudio de validez diagnóstica del kit a-TG2-GL, observamos que los índices de sensibilidad y especificidad resultaron del 100% y 96%, respectivamente; y en cuanto a los VPP y VPN, resultaron del 11,8% y 100%, respectivamente. Basándonos en los resultados obtenidos y al relacionar los valores de los cuatro índices, se puede concluir que por sí solo el test de a-TG2-GL no es un kit muy útil, principalmente por su bajo VPP (11,8%). Al calcular las razones de probabilidad positiva (25) y negativa (0), vemos que podría considerarse que es un test con una buena precisión diagnóstica, dado que los valores obtenidos son >10 para la positiva y $<0,1$ para la negativa. Sin embargo al calcular la probabilidad pre-test (probabilidad de que un individuo sea celíaco), vemos que es bastante baja (0,5%). Debemos recordar que el VPP y la probabilidad pre-test dependen de la prevalencia de la enfermedad. No obstante, el tamaño de muestra analizado es insuficiente, puesto que no se observa la realidad de este kit, que parece que permite detectar pacientes con características poco frecuentes. Dada la baja probabilidad pre-test y que nuestros estudios sugieren que la determinación de a-TG2-GL detecte aproximadamente un 15% de enfermos no detectados con otros kits frente a a-TG2, no se obtendrán conclusiones válidas hasta analizar una muestra bastante mayor.

Los mismos índices, pero analizados en relación con el anticuerpo a-PDG, nos demuestran que es un kit que tiene, a su vez, un menor rendimiento diagnóstico que el anterior. Presentando una baja sensibilidad (66%) y VPP (22%); al igual que la probabilidad pre-test (0,5%), en concordancia con el kit anterior. Al analizar las razones de probabilidad, la razón negativa supera el umbral establecido para una buena

precisión diagnóstica. No obstante, de nuevo sería necesario un mayor tamaño de muestra para obtener conclusiones firmes.

Al analizar los resultados obtenidos para el EMA, vemos que este anticuerpo presenta los valores “ideales”, con una sensibilidad y especificidad elevada (100%), al igual que el VPP y VPN. Sin embargo, a este anticuerpo además de ciertas desventajas comentadas previamente en el capítulo de introducción, que hacen que no sea el anticuerpo de primera línea de cribado serológico, hay que añadir que no permite diagnosticar al grupo de pacientes descritos en este trabajo y caracterizados por presentar a-TG2-GL. Por tanto, su sensibilidad es menor que la comúnmente aceptada.

Al llevar a cabo un estudio comparativo para ver si algún otro kit comercial del mercado identificaba con similar sensibilidad pero mejor especificidad nuestros EC EMA negativo, lo que obtuvimos fue un porcentaje de diagnóstico similar para las casas que utilizan el anticuerpo a-TG2 convencional (66-69% correspondiente a los individuos EMA positivo), pero en el caso de INOVA (que también detecta a-TG2-GL) este detectó hasta un 84% de celíacos EMA positivo y un individuo EMA negativo. En relación al a-PDG, el porcentaje de pacientes diagnosticados osciló entre el 40% y el 53% para EC EMA positivo y entre 0% y 25% para EC EMA negativo, indicando la baja sensibilidad de este anticuerpo.

Ambos estudios, de validez diagnóstica y el comparativo, junto con los resultados hasta ahora expuestos, nos permitieron confirmar que el kit a-TG2-GL si bien no tiene una buena precisión diagnóstica, presenta la importante ventaja de que constituye una herramienta muy útil que permite estudiar pacientes que de otra manera serían descartados, representando éstos un 15% de todos los celíacos

diagnosticados, y sobre todo pacientes con características particulares (menor lesión histológica, menor nivel de anticuerpos y predominio de genética de bajo riesgo). Sin embargo, este kit también tiene sus desventajas que se relacionan con su bajo VPP, generando un aumento considerable de consultas y de endoscopias con toma de biopsias duodenales. Aún así, es importante tener en cuenta que la determinación de anticuerpos por sí sola no es una prueba confirmatoria de la EC y que no existe un kit de anticuerpos que detecte el 100% de los pacientes por sí solo, la combinación de varios es lo que eleva la precisión diagnóstica.

A pesar de lo expuesto hasta ahora, no debemos negar que también existe lo que denominan un sobre-diagnóstico de la enfermedad, y que se debe a varios factores entre los que se encuentra la falta de accesibilidad (en algunas regiones) al test genético, a la endoscopia y al análisis de la biopsia por un patólogo cualificado, por lo que el diagnóstico se realiza solo basándose en la serología, que como hemos visto, kits con elevada sensibilidad y bajo VPP conducen a una gran cantidad de resultados falsos positivos, que se pueden malinterpretar. Siempre se debe tener en cuenta que la sospecha clínica por parte del médico es lo que prevalece sobre los resultados para poder así descartar o diagnosticar la enfermedad. Otro lugar importante en esta problemática lo ocupa la dieta, la respuesta clínica a la DSG por sí sola no es diagnóstico de la enfermedad, puesto que existen otras patologías que se benefician de esa dieta, como el síndrome de intestino irritable, que a su vez comparte sintomatología con la EC y cuyos síntomas pueden mejorar con la restricción al gluten sin ser el paciente celíaco.

El hecho de que la EC sea una enfermedad crónica hace que la precisión en el diagnóstico sea una necesidad importante, lo que depende más del nivel de experiencia y conocimiento proporcionado por el médico, que en la aplicación estricta de un protocolo. Sin embargo, romper con esquemas ya establecidos es, en ocasiones, una tarea difícil de conseguir. Las recomendaciones actuales de las diferentes guías clínicas como norma principal, indican iniciar el estudio con la determinación de los anticuerpos: a-TG2 y EMA, ante la positividad de estos se debe realizar una biopsia duodenal para confirmar la enfermedad. Si bien las recomendaciones son similares en ambos grupos etarios, sólo en niños y adolescentes la biopsia puede evitarse en ciertas situaciones (clínica sugerente, a-TG2 >10 veces el límite normal, EMA positivo y genética compatible). El caso de los pacientes adultos es diferente, puesto que precisan de la realización de la biopsia para un correcto diagnóstico. No existe ninguna guía clínica de adultos que no recomiende la realización de la biopsia. La aplicación de los nuevos criterios diagnósticos publicados por la ESPGHAN para la población pediátrica es un tema que genera controversia. No todos los kits de a-TG2 disponibles en el mercado pueden asegurar una correlación con el EMA del 100%, ni una elevada fiabilidad diagnóstica. Lo que hace que, en muchas situaciones, la biopsia continúe siendo necesaria para el diagnóstico. La regla '4 de 5' descrita por Catassi y Fasano constituye un avance en el diagnóstico de la enfermedad, en vista de que los pacientes (adultos o niños) con características particulares pueden ser diagnosticados, pero aún así hay muchos que permanecen bajo la línea del agua que separa diagnosticados de no diagnosticados. De forma gráfica podemos ver lo que ocurriría al aplicar los algoritmos propuestos por la ESPGHAN en nuestros pacientes pediátricos: en la Figura

20 para niños sintomáticos en donde sólo se diagnosticarían 10 niños al utilizar una a-TG2 convencional, y en la Figura 21 para niños asintomáticos que de haber resultado positivos frente a a-TG2 convencional permanecerían en revisión, sin diagnóstico confirmado.

La utilización en la rutina del genotipado HLA, de acuerdo a las guías clínicas actuales, se recomienda frente a casos dudosos de EC, como discrepancia entre la serología y la biopsia o en individuos que pertenecen a grupos de riesgo; o también para realizar el diagnóstico en niños sin biopsia; puesto que proporciona a los médicos un apoyo adicional. Sin embargo, con nuestro estudio demostramos que el elevado valor predictivo negativo que se le da al HLA puede contribuir al infra-diagnóstico asociado con la enfermedad, excluyendo a individuos celíacos que presentan moléculas HLA diferentes a DQ2/DQ8 y que se encontrarían actualmente en la parte oculta del iceberg celíaco.

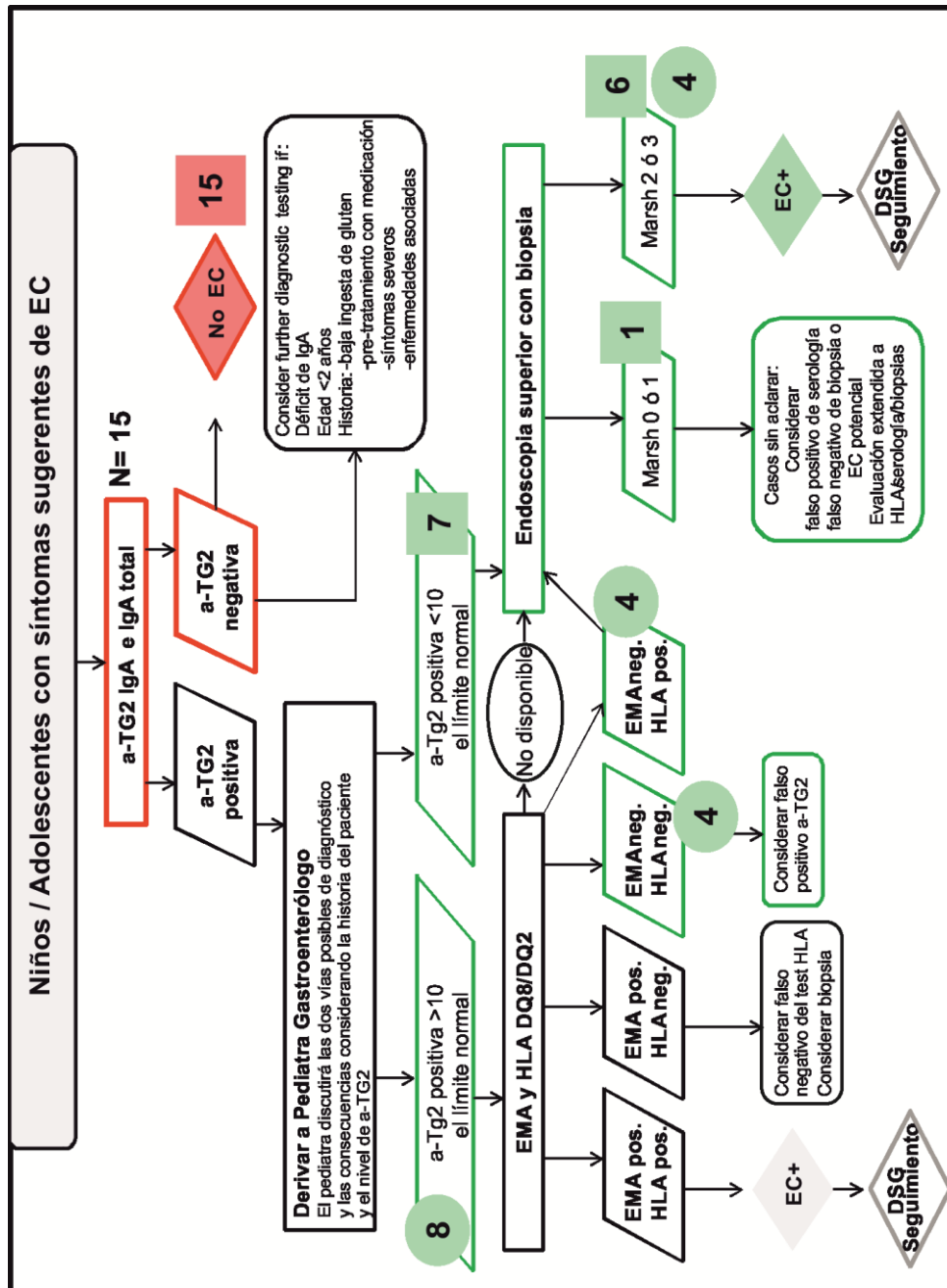


Figura 20. Aplicación del algoritmo de la ESPGHAN en pacientes con síntomas. La ruta de color rojo muestra lo que ocurriría con estos niños de haber utilizado un a-TG2 convencional. La ruta en verde corresponde a los niños que hubieran resultado positivos también para a-TG2 convencional.

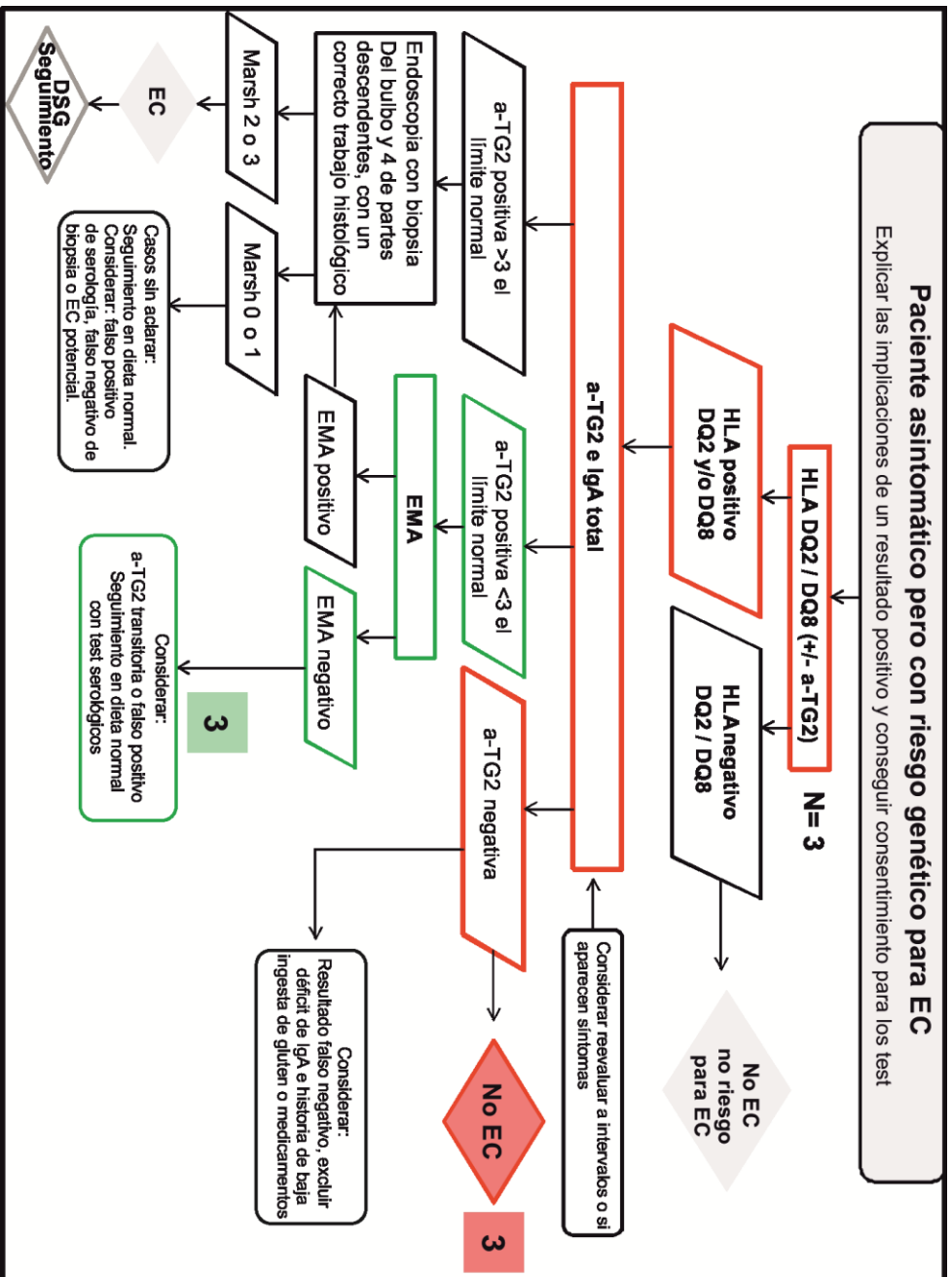


Figura 21. Aplicación del algoritmo de la ESPGHAN en pacientes asintomáticos pertenecientes a grupos de riesgo. La ruta de color rojo muestra lo que ocurriría con estos niños de haber utilizado un a-TG2 convencional. La ruta en verde corresponde a los que hubieran resultado positivos para a-TG2 convencional.

Para finalizar, recordamos brevemente que pacientes con clínica, serología positiva, HLA y daño histológico compatible con la enfermedad constituyen en gran medida la parte emergida del iceberg celíaco. Avanzar en la búsqueda de herramientas diagnósticas que permitan ver la totalidad del iceberg es de suma importancia y uno de los temas actuales de investigación en esta enfermedad. Con los estudios realizados para esta tesis doctoral, hemos logrado que una parte del iceberg sumergido empiece a emerger, poniendo de manifiesto que existe una correlación entre los valores de las diferentes pruebas diagnósticas, de manera que la genética de alto riesgo se observa muy frecuentemente con Marsh 3c y elevados valores de anticuerpos. Pero esto pone en una situación difícil a individuos con anticuerpos negativos, que con mayor frecuencia presentarán Marsh 1 o como mucho Marsh 3a y bajo riesgo genético. Por tanto, en estos individuos el diagnóstico es muy complejo, puesto que en ocasiones ninguna prueba conduce a un diagnóstico firme. En la Figura 22 se muestra un esquema de esta teoría.

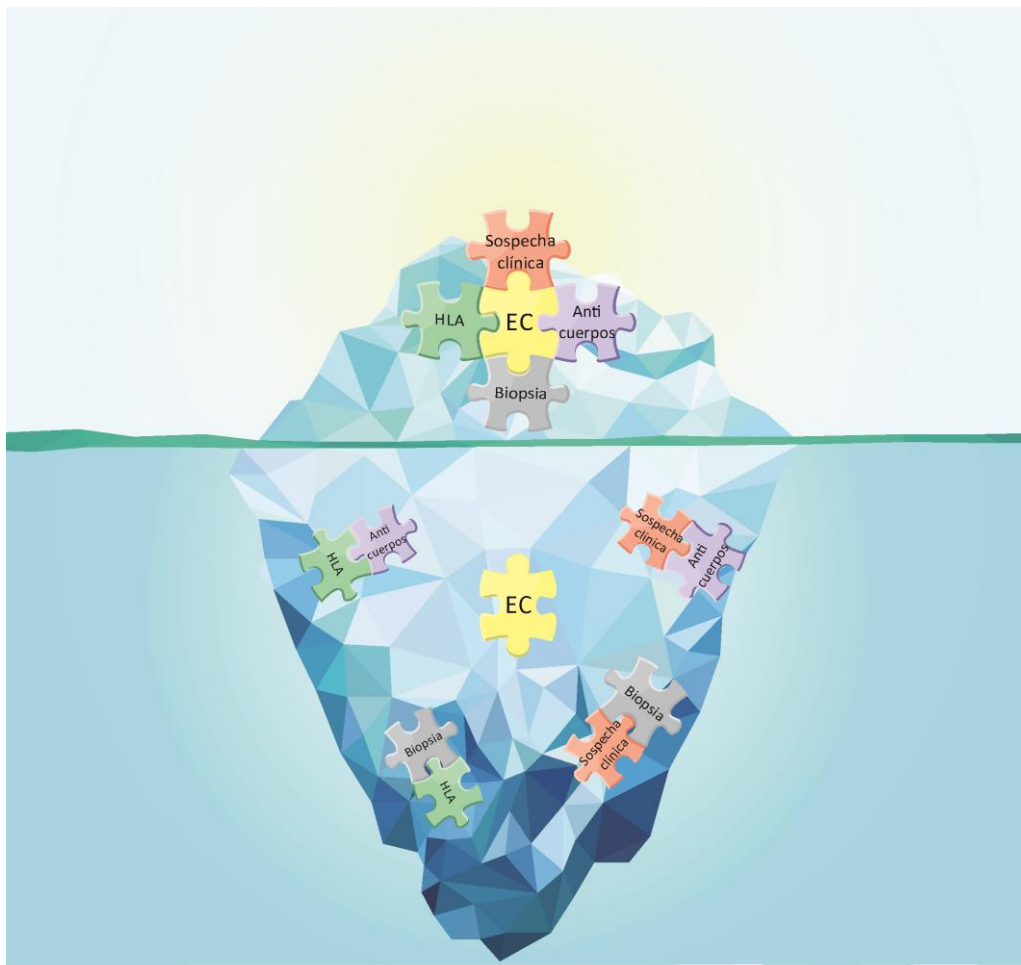


Figura 22. Imagen representativa del iceberg de la EC.

En la parte sobre el nivel del mar se encontraría la mayor parte de los pacientes sintomáticos que presentan todos los criterios diagnósticos y en la parte sumergida los que presentan uno, dos o tres, y escapan de los actuales algoritmos diagnósticos.

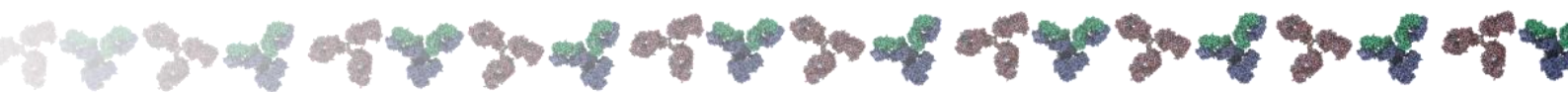
Aunque la representación dada por Richard Logan con su iceberg celíaco¹⁵⁷ es útil para demostrar la gran cantidad de pacientes con celiaquía aún no detectada, no se puede inferir que todos presenten las mismas características. De hecho, hoy en día se considera que en los individuos que se encuentran en la parte sumergida del iceberg son en su mayoría asintomáticos o presentan síntomas considerados no clásicos, como problemas neurológicos, infertilidad, depresión, fatiga crónica, etc. Además también estarían los celíacos potenciales. Pero quizás se debería pensar que son pacientes que

pueden tener síntomas, en ocasiones clásicos, pero en los que falla algún pilar diagnóstico. Esto podría estar en relación con el “modelo de eventos múltiples” descrito por Koning ⁷⁹, que explica por qué la enfermedad no se manifiesta igual en todos los pacientes: si no ocurren todos los eventos la enfermedad puede ser menos severa. Es importante reconocer que la EC forma parte de un *continuum*, en el que existe una expresión variable y con variación en los resultados obtenidos en las pruebas diagnósticas.

Futuras perspectivas

Con este trabajo hemos intentado ayudar en la caracterización de pacientes “atípicos” que escapan de los diferentes algoritmos diagnósticos. Si bien hemos logrado aportar datos interesantes al respecto, aún queda camino por recorrer. Actualmente estamos buscando nuevos marcadores diagnósticos tratando de incluir a pacientes con diferentes características. Nos centramos en la respuesta de los individuos ante la ingesta de gluten, algo que debería dejar alguna “huella” en todos los celíacos, y que por tanto esperamos que permita obtener marcadores de mayor sensibilidad.

CONCLUSIONES

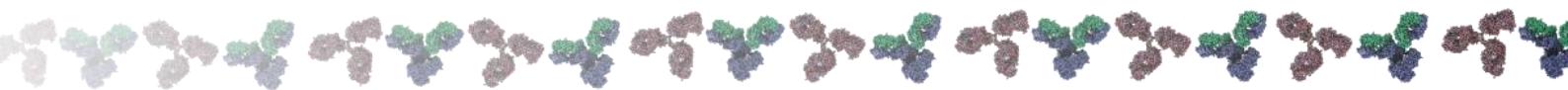


A continuación se indican las conclusiones de la presente Tesis Doctoral:

1. Algunos pacientes celíacos que muestran negatividad frente a EMA presentan anticuerpos a-TG2-GL. Sin embargo, la baja especificidad de este anticuerpo cuestiona su uso generalizado en la práctica clínica.
2. Los pacientes celíacos caracterizados por presentar anticuerpos frente a a-TG2-GL pero no frente a EMA, muestran un predominio de genética HLA de bajo riesgo a EC, así como menor grado de lesión de la mucosa intestinal.
3. El alelo *HLA-DQA1*05*, cuyo papel en el riesgo a la EC es controvertido, es el alelo más frecuente en los individuos celíacos positivos para a-TG2-GL y negativos para EMA que carecen del heterodímero HLA-DQ2.
4. Los anticuerpos frente a PDG no parecen contribuir de manera relevante al diagnóstico de pacientes celíacos seronegativos para los otros anticuerpos empleados en el diagnóstico. Esto se observa tanto en población pediátrica como adulta.
5. El conocimiento actual sobre la EC está basado principalmente en pacientes con la genética HLA de mayor riesgo, anticuerpos específicos positivos y atrofia intestinal. Si bien éstos constituyen la gran mayoría de los pacientes, los individuos celíacos con características poco frecuentes representan muy probablemente un grupo no despreciable pero claramente infra-diagnosticado.
6. Con el objetivo de evitar errores en el diagnóstico y las complicaciones que conlleva la demora en el mismo, creemos que es necesario realizar una revisión de los

criterios diagnósticos actuales con el fin de incluir a todos aquellos pacientes que escapan de los actuales algoritmos y reducir de esta forma el infra-diagnóstico asociado con esta enfermedad.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS



1. Dowd B, Walker-Smith J. Samuel Gee, Aretaeus, and the coeliac affection. *Br Med J* 1974;2:45-7.
2. Paveley WF. From Aretaeus to Crosby: a history of coeliac disease. *Bmj* 1988;297:1646-9.
3. Gee SJ. On the coeliac affection. *St. Bartholomew's Hospital Reports* 1888;24:17-20.
4. Still GF. The Lumleian Lectures on Coeliac Disease. *The Lancet* 1918;192:193-197.
5. Dicke WK, Weijers HA, Van De Kamer JH. Coeliac disease. II. The presence in wheat of a factor having a deleterious effect in cases of coeliac disease. *Acta Paediatr* 1953;42:34-42.
6. Anderson CM, French JM, Sammons HG, et al. Coeliac disease; gastrointestinal studies and the effect of dietary wheat flour. *Lancet* 1952;1:836-42.
7. Paulley JW. Observations on the Aetiology of Idiopathic Steatorrhoea, 1954.
8. Sakula J, Shiner M. Coeliac disease with atrophy of the small-intestine mucosa. *Lancet* 1957;273:876-7.
9. Anderson CM. Histological changes in the duodenal mucosa in coeliac disease. Reversibility during treatment with a wheat gluten free diet. *Arch Dis Child* 1960;35:419-27.
10. Kivel RM, Kearns DH, Liebowitz D. Significance of antibodies to dietary proteins in the serums of patients with nontropical sprue. *N Engl J Med* 1964;271:769-72.
11. Seah PP, Fry L, Hoffbrand AV, et al. Tissue antibodies in dermatitis herpetiformis and adult coeliac disease. *Lancet* 1971;1:834-6.
12. Stokes PL, Asquith P, Holmes GK, et al. Histocompatibility antigens associated with adult coeliac disease. *Lancet* 1972;2:162-4.
13. Falchuk ZM, Rogentine GN, Strober W. Predominance of histocompatibility antigen HL-A8 in patients with gluten-sensitive enteropathy. *J Clin Invest* 1972;51:1602-5.
14. Chorzelski TP, Sulej J, Tchorzewska H, et al. IgA class endomysium antibodies in dermatitis herpetiformis and coeliac disease. *Ann N Y Acad Sci* 1983;420:325-34.
15. Dieterich W, Ehnis T, Bauer M, et al. Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of celiac disease. *Nat Med* 1997;3:797-801.
16. Molberg O, McAdam SN, Korner R, et al. Tissue transglutaminase selectively modifies gliadin peptides that are recognized by gut-derived T cells in celiac disease. *Nat Med* 1998;4:713-7.
17. Anderson RP, Degano P, Godkin AJ, et al. In vivo antigen challenge in celiac disease identifies a single transglutaminase-modified peptide as the dominant A-gliadin T-cell epitope. *Nat Med* 2000;6:337-42.
18. European Society for Paediatric Gastroenterology. *Acta Pædiatrica* 1970;59:461-464.
19. McNeish AS, Harms HK, Rey J, et al. The diagnosis of coeliac disease. A commentary on the current practices of members of the European Society for Paediatric Gastroenterology and Nutrition (ESPGAN). *Arch Dis Child* 1979;54:783-6.
20. Revised criteria for diagnosis of coeliac disease. Report of Working Group of European Society of Paediatric Gastroenterology and Nutrition. *Arch Dis Child* 1990;65:909-11.
21. Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabo IR, et al. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2012;54:136-60.
22. Bai JC, Fried M, Corazza GR, et al. World gastroenterology organisation global guidelines on celiac disease. *J Clin Gastroenterol* 2013;47:121-6.
23. Whitacre CC. Sex differences in autoimmune disease. *Nat Immunol* 2001;2:777-80.

24. Ivarsson A, Persson LA, Nystrom L, et al. The Swedish coeliac disease epidemic with a prevailing twofold higher risk in girls compared to boys may reflect gender specific risk factors. *Eur J Epidemiol* 2003;18:677-84.
25. Green PHR, Stavropoulos SN, Panagi SG, et al. Characteristics of adult celiac disease in the USA: results of a national survey. *Am J Gastroenterol* 2001;96:126-31.
26. West J, Logan RF, Hill PG, et al. Seroprevalence, correlates, and characteristics of undetected coeliac disease in England. *Gut* 2003;52:960-5.
27. Maki M, Mustalahti K, Kokkonen J, et al. Prevalence of Celiac disease among children in Finland. *N Engl J Med* 2003;348:2517-24.
28. Fasano A, Berti I, Gerarduzzi T, et al. Prevalence of celiac disease in at-risk and not-at-risk groups in the United States: a large multicenter study. *Arch Intern Med* 2003;163:286-92.
29. Bingley PJ, Williams AJ, Norcross AJ, et al. Undiagnosed coeliac disease at age seven: population based prospective birth cohort study. *BMJ* 2004;328:322-3.
30. Dieli-Crimi R, Cenit MC, Nunez C. The genetics of celiac disease: A comprehensive review of clinical implications. *J Autoimmun* 2015.
31. Cilleruelo Pascual ML, Roman Riechmann E, Jimenez Jimenez J, et al. Silent celiac disease: exploring the iceberg in the school-aged population. *An Esp Pediatr* 2002;57:321-6.
32. Castano L, Blarduni E, Ortiz L, et al. Prospective population screening for celiac disease: high prevalence in the first 3 years of life. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2004;39:80-4.
33. Marine M, Farre C, Alsina M, et al. The prevalence of coeliac disease is significantly higher in children compared with adults. *Aliment Pharmacol Ther* 2011;33:477-86.
34. Riestra S, Fernandez E, Rodrigo L, et al. Prevalence of Coeliac disease in the general population of northern Spain. Strategies of serologic screening. *Scand J Gastroenterol* 2000;35:398-402.
35. Garcia Novo MD, Garfia C, Acuna Quiros MD, et al. Prevalence of celiac disease in apparently healthy blood donors in the autonomous community of Madrid. *Rev Esp Enferm Dig* 2007;99:337-42.
36. Cilleruelo ML, Roman-Riechmann E, Sanchez-Valverde F, et al. Spanish national registry of celiac disease: incidence and clinical presentation. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2014;59:522-6.
37. Catassi C, Kryszak D, Bhatti B, et al. Natural history of celiac disease autoimmunity in a USA cohort followed since 1974. *Ann Med* 2010;42:530-8.
38. Kagnoff MF. Overview and pathogenesis of celiac disease. *Gastroenterology* 2005;128:S10-8.
39. Koskinen O, Villanen M, Korponay-Szabo I, et al. Oats do not induce systemic or mucosal autoantibody response in children with coeliac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2009;48:559-65.
40. Molberg O, McAdam S, Lundin KE, et al. T cells from celiac disease lesions recognize gliadin epitopes deamidated in situ by endogenous tissue transglutaminase. *Eur J Immunol* 2001;31:1317-23.
41. Renz H, Brandtzaeg P, Hornef M. The impact of perinatal immune development on mucosal homeostasis and chronic inflammation. *Nat Rev Immunol* 2012;12:9-23.
42. Sandberg-Bennich S, Dahlquist G, Kallen B. Coeliac disease is associated with intrauterine growth and neonatal infections. *Acta Paediatr* 2002;91:30-3.
43. Myleus A, Hernell O, Gothefors L, et al. Early infections are associated with increased risk for celiac disease: an incident case-referent study. *BMC Pediatr* 2012;12:194.

44. Riddle MS, Murray JA, Cash BD, et al. Pathogen-specific risk of celiac disease following bacterial causes of foodborne illness: a retrospective cohort study. *Dig Dis Sci* 2013;58:3242-5.
45. Lionetti E, Castellaneta S, Francavilla R, et al. Introduction of gluten, HLA status, and the risk of celiac disease in children. *N Engl J Med* 2014;371:1295-303.
46. Vriezinga SL, Auricchio R, Bravi E, et al. Randomized feeding intervention in infants at high risk for celiac disease. *N Engl J Med* 2014;371:1304-15.
47. Aronsson CA, Lee HS, Liu E, et al. Age at Gluten Introduction and Risk of Celiac Disease. *Pediatrics* 2015.
48. Greco L, Romino R, Coto I, et al. The first large population based twin study of coeliac disease. *Gut* 2002;50:624-8.
49. Petronzelli F, Bonamico M, Ferrante P, et al. Genetic contribution of the HLA region to the familial clustering of coeliac disease. *Ann Hum Genet* 1997;61:307-17.
50. Bevan S, Popat S, Braegger CP, et al. Contribution of the MHC region to the familial risk of coeliac disease. *J Med Genet* 1999;36:687-90.
51. Risch N. Assessing the role of HLA-linked and unlinked determinants of disease. *Am J Hum Genet* 1987;40:1-14.
52. Klein J, Sato A. The HLA system. First of two parts. *N Engl J Med* 2000;343:702-9.
53. Mazzilli MC, Ferrante P, Mariani P, et al. A study of Italian pediatric celiac disease patients confirms that the primary HLA association is to the DQ(alpha 1*0501, beta 1*0201) heterodimer. *Hum Immunol* 1992;33:133-9.
54. Karell K, Louka AS, Moodie SJ, et al. HLA types in celiac disease patients not carrying the DQA1*05-DQB1*02 (DQ2) heterodimer: results from the European Genetics Cluster on Celiac Disease. *Hum Immunol* 2003;64:469-77.
55. Sollid LM, Markussen G, Ek J, et al. Evidence for a primary association of celiac disease to a particular HLA-DQ alpha/beta heterodimer. *J Exp Med* 1989;169:345-50.
56. Sollid LM, Thorsby E. HLA susceptibility genes in celiac disease: genetic mapping and role in pathogenesis. *Gastroenterology* 1993;105:910-22.
57. Tosi R, Tanigaki N, Polanco I, et al. A radioimmunoassay typing study of non-DQw2-associated celiac disease. *Clin Immunol Immunopathol* 1986;39:168-72.
58. Spurkland A, Sollid LM, Polanco I, et al. HLA-DR and -DQ genotypes of celiac disease patients serologically typed to be non-DR3 or non-DR5/7. *Hum Immunol* 1992;35:188-92.
59. Clot F, Gianfrani C, Babron MC, et al. HLA-DR53 molecules are associated with susceptibility to celiac disease and selectively bind gliadin-derived peptides. *Immunogenetics* 1999;49:800-7.
60. Polvi A, Arranz E, Fernandez-Arquero M, et al. HLA-DQ2-negative celiac disease in Finland and Spain. *Hum Immunol* 1998;59:169-75.
61. Megiorni F, Mora B, Bonamico M, et al. HLA-DQ and susceptibility to celiac disease: evidence for gender differences and parent-of-origin effects. *Am J Gastroenterol* 2008;103:997-1003.
62. Megiorni F, Mora B, Bonamico M, et al. HLA-DQ and risk gradient for celiac disease. *Hum Immunol* 2009;70:55-9.
63. Vader W, Stepniak D, Kooy Y, et al. The HLA-DQ2 gene dose effect in celiac disease is directly related to the magnitude and breadth of gluten-specific T cell responses. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100:12390-5.
64. Louka AS, Nilsson S, Olsson M, et al. HLA in coeliac disease families: a novel test of risk modification by the 'other' haplotype when at least one DQA1*05-DQB1*02 haplotype is carried. *Tissue Antigens* 2002;60:147-54.

65. van Belzen MJ, Koeleman BP, Crusius JB, et al. Defining the contribution of the HLA region to cis DQ2-positive coeliac disease patients. *Genes Immun* 2004;5:215-20.
66. Liu E, Lee HS, Aronsson CA, et al. Risk of pediatric celiac disease according to HLA haplotype and country. *N Engl J Med* 2014;371:42-9.
67. Trynka G, Hunt KA, Bockett NA, et al. Dense genotyping identifies and localizes multiple common and rare variant association signals in celiac disease. *Nat Genet* 2011;43:1193-201.
68. Gutierrez-Achury J, Zhernakova A, Pulit SL, et al. Fine mapping in the MHC region accounts for 18% additional genetic risk for celiac disease. *Nat Genet* 2015;47:577-8.
69. Brandtzaeg P. The changing immunological paradigm in coeliac disease. *Immunol Lett* 2006;105:127-39.
70. Kutlu T, Brousse N, Rambaud C, et al. Numbers of T cell receptor (TCR) alpha beta+ but not of TcR gamma delta+ intraepithelial lymphocytes correlate with the grade of villous atrophy in coeliac patients on a long term normal diet. *Gut* 1993;34:208-14.
71. Meresse B, Chen Z, Ciszewski C, et al. Coordinated induction by IL15 of a TCR-independent NKG2D signaling pathway converts CTL into lymphokine-activated killer cells in celiac disease. *Immunity* 2004;21:357-66.
72. Bhagat G, Naiyer AJ, Shah JG, et al. Small intestinal CD8+TCRgammadelta+NKG2A+ intraepithelial lymphocytes have attributes of regulatory cells in patients with celiac disease. *J Clin Invest* 2008;118:281-93.
73. van Bergen J, Mulder CJ, Mearin ML, et al. Local Communication Among Mucosal Immune Cells in Patients With Celiac Disease. *Gastroenterology* 2015.
74. Iversen R, Di Niro R, Stamnaes J, et al. Transglutaminase 2-specific autoantibodies in celiac disease target clustered, N-terminal epitopes not displayed on the surface of cells. *J Immunol* 2013;190:5981-91.
75. Fleckenstein B, Molberg O, Qiao SW, et al. Gliadin T cell epitope selection by tissue transglutaminase in celiac disease. Role of enzyme specificity and pH influence on the transamidation versus deamidation process. *J Biol Chem* 2002;277:34109-16.
76. Fleckenstein B, Qiao SW, Larsen MR, et al. Molecular characterization of covalent complexes between tissue transglutaminase and gliadin peptides. *J Biol Chem* 2004;279:17607-16.
77. Matthias T, Pfeiffer S, Selmi C, et al. Diagnostic challenges in celiac disease and the role of the tissue transglutaminase-neo-epitope. *Clin Rev Allergy Immunol* 2010;38:298-301.
78. Di Pisa M, Pascarella S, Scrima M, et al. Synthetic Peptides Reproducing Tissue Transglutaminase-Gliadin Complex Neo-epitopes as Probes for Antibody Detection in Celiac Disease Patients' Sera. *J Med Chem* 2015;58:1390-9.
79. Koning F. Pathophysiology of celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2014;59 Suppl 1:S1-4.
80. Sapone A, Bai JC, Ciacci C, et al. Spectrum of gluten-related disorders: consensus on new nomenclature and classification. *BMC Med* 2012;10:13.
81. Ludvigsson JF, Leffler DA, Bai JC, et al. The Oslo definitions for coeliac disease and related terms. *Gut* 2013;62:43-52.
82. Hill ID, Dirks MH, Liptak GS, et al. Guideline for the diagnosis and treatment of celiac disease in children: recommendations of the North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2005;40:1-19.
83. Garampazzi A, Rapa A, Mura S, et al. Clinical pattern of celiac disease is still changing. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2007;45:611-4.

84. Fasano A. Clinical presentation of celiac disease in the pediatric population. *Gastroenterology* 2005;128:S68-S73.
85. Rampertab SD, Pooran N, Brar P, et al. Trends in the presentation of celiac disease. *Am J Med* 2006;119:355 e9-14.
86. Reilly NR, Green PH. Epidemiology and clinical presentations of celiac disease. *Semin Immunopathol* 2012;34:473-8.
87. Arranz E, Garrote Adrados JA. Enfermedad Celíaca. Introducción al conocimiento actual de la Enfermedad Celíaca. Madrid: Ergon, 2011.
88. Rubio-Tapia A, Van Dyke CT, Lahr BD, et al. Predictors of family risk for celiac disease: a population-based study. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2008;6:983-7.
89. Fasano A, Catassi C. Clinical practice. Celiac disease. *N Engl J Med* 2012;367:2419-26.
90. Volta U, Tovoli F, Caio G. Clinical and immunological features of celiac disease in patients with Type 1 diabetes mellitus. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2011;5:479-87.
91. Sattar N, Lazare F, Kacer M, et al. Celiac disease in children, adolescents, and young adults with autoimmune thyroid disease. *J Pediatr* 2011;158:272-5 e1.
92. Spadaccino AC, Basso D, Chiarelli S, et al. Celiac disease in North Italian patients with autoimmune thyroid diseases. *Autoimmunity* 2008;41:116-21.
93. Wouters J, Weijerman ME, van Furth AM, et al. Prospective human leukocyte antigen, endomysium immunoglobulin A antibodies, and transglutaminase antibodies testing for celiac disease in children with Down syndrome. *J Pediatr* 2009;154:239-42.
94. Frost AR, Band MM, Conway GS. Serological screening for coeliac disease in adults with Turner's syndrome: prevalence and clinical significance of endomysium antibody positivity. *Eur J Endocrinol* 2009;160:675-9.
95. Lenhardt A, Plebani A, Marchetti F, et al. Role of human-tissue transglutaminase IgG and anti-gliadin IgG antibodies in the diagnosis of coeliac disease in patients with selective immunoglobulin A deficiency. *Dig Liver Dis* 2004;36:730-4.
96. Carroccio A, Di Prima L, Falci C, et al. Predictive value of serological tests in the diagnosis of celiac disease. *Ann Ital Med Int* 2002;17:102-7.
97. Carroccio A, Vitale G, Di Prima L, et al. Comparison of anti-transglutaminase ELISAs and an anti-endomysial antibody assay in the diagnosis of celiac disease: a prospective study. *Clin Chem* 2002;48:1546-50.
98. Rostom A, Dube C, Cranney A, et al. The diagnostic accuracy of serologic tests for celiac disease: a systematic review. *Gastroenterology* 2005;128:S38-46.
99. Lewis NR, Scott BB. Systematic review: the use of serology to exclude or diagnose coeliac disease (a comparison of the endomysial and tissue transglutaminase antibody tests). *Aliment Pharmacol Ther* 2006;24:47-54.
100. Chorzelski TP, Beutner EH, Sulej J, et al. IgA anti-endomysium antibody. A new immunological marker of dermatitis herpetiformis and coeliac disease. *Br J Dermatol* 1984;111:395-402.
101. Di Tola M, Sabbatella L, Anania MC, et al. Anti-tissue transglutaminase antibodies in inflammatory bowel disease: new evidence. *Clin Chem Lab Med* 2004;42:1092-7.
102. McGowan KE, Lyon ME, Loken SD, et al. Celiac disease: are endomysial antibody test results being used appropriately? *Clin Chem* 2007;53:1775-81.
103. Rozenberg O, Lerner A, Pacht A, et al. A novel algorithm for the diagnosis of celiac disease and a comprehensive review of celiac disease diagnostics. *Clin Rev Allergy Immunol* 2012;42:331-41.

104. Bizzaro N, Villalta D, Tonutti E, et al. IgA and IgG tissue transglutaminase antibody prevalence and clinical significance in connective tissue diseases, inflammatory bowel disease, and primary biliary cirrhosis. *Dig Dis Sci* 2003;48:2360-5.
105. Bizzaro N, Villalta D, Tonutti E, et al. Association of celiac disease with connective tissue diseases and autoimmune diseases of the digestive tract. *Autoimmunity Reviews* 2003;2:358-363.
106. Villalta D, Crovatto M, Stella S, et al. False positive reactions for IgA and IgG anti-tissue transglutaminase antibodies in liver cirrhosis are common and method-dependent. *Clin Chim Acta* 2005;356:102-9.
107. Bizzaro N, Tampoia M, Villalta D, et al. Low specificity of anti-tissue transglutaminase antibodies in patients with primary biliary cirrhosis. *J Clin Lab Anal* 2006;20:184-9.
108. Sima H, Hekmatdoost A, Ghaziani T, et al. The prevalence of celiac autoantibodies in hepatitis patients. *Iran J Allergy Asthma Immunol* 2010;9:157-62.
109. Sari S, Yesilkaya E, Egritas O, et al. Prevalence of celiac disease in Turkish children with autoimmune thyroiditis. *Dig Dis Sci* 2009;54:830-2.
110. Giersiepen K, Lelgemann M, Stuhldreher N, et al. Accuracy of diagnostic antibody tests for coeliac disease in children: summary of an evidence report. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2012;54:229-41.
111. Sugai E, Selvaggio G, Vazquez H, et al. Tissue transglutaminase antibodies in celiac disease: assessment of a commercial kit. *Am J Gastroenterol* 2000;95:2318-22.
112. Kurppa K, Ashorn M, Iltanen S, et al. Celiac disease without villous atrophy in children: a prospective study. *J Pediatr* 2010;157:373-80, 380.e1.
113. Donaldson MR, Book LS, Leiferman KM, et al. Strongly positive tissue transglutaminase antibodies are associated with Marsh 3 histopathology in adult and pediatric celiac disease. *J Clin Gastroenterol* 2008;42:256-60.
114. Mubarak A, Wolters VM, Gerritsen SA, et al. A biopsy is not always necessary to diagnose celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2011;52:554-7.
115. Alessio MG, Tonutti E, Brusca I, et al. Correlation between IgA tissue transglutaminase antibody ratio and histological finding in celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2012;55:44-9.
116. Dahle C, Hagman A, Ignatova S, et al. Antibodies against deamidated gliadin peptides identify adult coeliac disease patients negative for antibodies against endomysium and tissue transglutaminase. *Aliment Pharmacol Ther* 2010;32:254-60.
117. Lytton SD, Antiga E, Pfeiffer S, et al. Neo-epitope tissue transglutaminase autoantibodies as a biomarker of the gluten sensitive skin disease--dermatitis herpetiformis. *Clin Chim Acta* 2013;415:346-9.
118. Basso D, Guariso G, Bozzato D, et al. New screening tests enrich anti-transglutaminase results and support a highly sensitive two-test based strategy for celiac disease diagnosis. *Clin Chim Acta* 2011;412:1662-7.
119. Barak M, Rozenberg O, Froom P, et al. Challenging our serological algorithm for celiac disease (CD) diagnosis by the ESPGHAN guidelines. *Clin Chem Lab Med* 2013;51:e257-9.
120. Tonutti E, Visentini D, Picierno A, et al. Diagnostic efficacy of the ELISA test for the detection of deamidated anti-gliadin peptide antibodies in the diagnosis and monitoring of celiac disease. *J Clin Lab Anal* 2009;23:165-71.
121. Jaskowski TD, Donaldson MR, Hull CM, et al. Novel screening assay performance in pediatric celiac disease and adult dermatitis herpetiformis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2010;51:19-23.

122. Sugai E, Hwang HJ, Vazquez H, et al. New serology assays can detect gluten sensitivity among enteropathy patients seronegative for anti-tissue transglutaminase. *Clin Chem* 2010;56:661-5.
123. Vermeersch P, Geboes K, Marien G, et al. Diagnostic performance of IgG anti-deamidated gliadin peptide antibody assays is comparable to IgA anti-tTG in celiac disease. *Clin Chim Acta* 2010;411:931-5.
124. Volta U, Granito A, Parisi C, et al. Deamidated gliadin peptide antibodies as a routine test for celiac disease: a prospective analysis. *J Clin Gastroenterol* 2010;44:186-90.
125. Villalta D, Tonutti E, Prause C, et al. IgG antibodies against deamidated gliadin peptides for diagnosis of celiac disease in patients with IgA deficiency. *Clin Chem* 2010;56:464-8.
126. Agardh D. Antibodies against synthetic deamidated gliadin peptides and tissue transglutaminase for the identification of childhood celiac disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007;5:1276-81.
127. Parizade M, Shainberg B. Positive deamidated gliadin peptide antibodies and negative tissue transglutaminase IgA antibodies in a pediatric population: to biopsy or not to biopsy. *Clin Vaccine Immunol* 2010;17:884-6.
128. Benkebil F, Combescure C, Anghel SI, et al. Diagnostic accuracy of a new point-of-care screening assay for celiac disease. *World J Gastroenterol* 2013;19:5111-7.
129. Rostami K, Kerckhaert JP, Tiemessen R, et al. The relationship between anti-endomysium antibodies and villous atrophy in coeliac disease using both monkey and human substrate. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1999;11:439-42.
130. Dickey W, Hughes DF, McMillan SA. Reliance on serum endomysial antibody testing underestimates the true prevalence of coeliac disease by one fifth. *Scand J Gastroenterol* 2000;35:181-3.
131. Tesei N, Sugai E, Vazquez H, et al. Antibodies to human recombinant tissue transglutaminase may detect coeliac disease patients undiagnosed by endomysial antibodies. *Aliment Pharmacol Ther* 2003;17:1415-23.
132. Abrams JA, Diamond B, Rotterdam H, et al. Seronegative celiac disease: increased prevalence with lesser degrees of villous atrophy. *Dig Dis Sci* 2004;49:546-50.
133. Salmi TT, Collin P, Korponay-Szabo IR, et al. Endomysial antibody-negative coeliac disease: clinical characteristics and intestinal autoantibody deposits. *Gut* 2006;55:1746-53.
134. Collin P, Kaukinen K, Vogelsang H, et al. Antiendomysial and antihuman recombinant tissue transglutaminase antibodies in the diagnosis of coeliac disease: a biopsy-proven European multicentre study. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2005;17:85-91.
135. Fernandez Salazar LI, de la Torre Ferrera N, Velayos Jimenez B, et al. Diagnostic problems in adult celiac disease. *Rev Esp Enferm Dig* 2008;100:24-8.
136. Kaukinen K, Partanen J, Maki M, et al. HLA-DQ typing in the diagnosis of celiac disease. *Am J Gastroenterol* 2002;97:695-9.
137. Murray JA, Moore SB, Van Dyke CT, et al. HLA DQ gene dosage and risk and severity of celiac disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007;5:1406-12.
138. Weir DC, Glickman JN, Roiff T, et al. Variability of histopathological changes in childhood celiac disease. *Am J Gastroenterol* 2010;105:207-12.
139. Gidrewicz D, Potter K, Trevenen CL, et al. Evaluation of the ESPGHAN Celiac Guidelines in a North American Pediatric Population. *Am J Gastroenterol* 2015;110:760-7.
140. Oberhuber G, Granditsch G, Vogelsang H. The histopathology of coeliac disease: time for a standardized report scheme for pathologists. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1999;11:1185-94.

141. Corazza GR, Villanacci V, Zambelli C, et al. Comparison of the interobserver reproducibility with different histologic criteria used in celiac disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007;5:838-43.
142. Camarero C, Eiras P, Asensio A, et al. Intraepithelial lymphocytes and coeliac disease: permanent changes in CD3-/CD7+ and T cell receptor gammadelta subsets studied by flow cytometry. *Acta Paediatr* 2000;89:285-90.
143. Fernandez-Banares F, Carrasco A, Garcia-Puig R, et al. Intestinal intraepithelial lymphocyte cytometric pattern is more accurate than subepithelial deposits of anti-tissue transglutaminase IgA for the diagnosis of celiac disease in lymphocytic enteritis. *PLoS One* 2014;9:e101249.
144. Koskinen O, Collin P, Lindfors K, et al. Usefulness of small-bowel mucosal transglutaminase-2 specific autoantibody deposits in the diagnosis and follow-up of celiac disease. *J Clin Gastroenterol* 2010;44:483-8.
145. Fasano A, Araya M, Bhatnagar S, et al. Federation of International Societies of Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition consensus report on celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2008;47:214-9.
146. Richey R, Howdle P, Shaw E, et al. Recognition and assessment of coeliac disease in children and adults: summary of NICE guidance. *Bmj* 2009;338:b1684.
147. Ciclitira PJ, King AL, Fraser JS. AGA technical review on Celiac Sprue. American Gastroenterological Association. *Gastroenterology* 2001;120:1526-40.
148. Rostom A, Murray JA, Kagnoff MF. American Gastroenterological Association (AGA) Institute technical review on the diagnosis and management of celiac disease. *Gastroenterology* 2006;131:1981-2002.
149. Catassi C, Fasano A. Celiac disease diagnosis: simple rules are better than complicated algorithms. *Am J Med* 2010;123:691-3.
150. Rubio-Tapia A, Hill ID, Kelly CP, et al. ACG clinical guidelines: diagnosis and management of celiac disease. *Am J Gastroenterol* 2013;108:656-76; quiz 677.
151. Ludvigsson JF, Bai JC, Biagi F, et al. Diagnosis and management of adult coeliac disease: guidelines from the British Society of Gastroenterology. *Gut* 2014;63:1210-28.
152. Talley NJ, Valdovinos M, Petterson TM, et al. Epidemiology of celiac sprue: a community-based study. *Am J Gastroenterol* 1994;89:843-6.
153. Catassi C, Ratsch IM, Fabiani E, et al. Coeliac disease in the year 2000: exploring the iceberg. *Lancet* 1994;343:200-3.
154. Catassi C, Fabiani E, Ratsch IM, et al. The coeliac iceberg in Italy. A multicentre antigliadin antibodies screening for coeliac disease in school-age subjects. *Acta Paediatr Suppl* 1996;412:29-35.
155. Mustalahti K, Catassi C, Reunanen A, et al. The prevalence of celiac disease in Europe: results of a centralized, international mass screening project. *Ann Med* 2010;42:587-95.
156. Catassi C, Gatti S, Fasano A. The new epidemiology of celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2014;59 Suppl 1:S7-9.
157. Logan RFA. Problems and pitfalls in epidemiological studies of coeliac disease. In: Auricchio S, Visakorpi J K, editors. *Common food intolerances 1 : epidemiology of coeliac disease*. Basel ; New York: Karger, 1992.
158. Fasano A, Catassi C. Current approaches to diagnosis and treatment of celiac disease: an evolving spectrum. *Gastroenterology* 2001;120:636-51.
159. Ilus T, Kaukinen K, Virta LJ, et al. Refractory coeliac disease in a country with a high prevalence of clinically-diagnosed coeliac disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2014;39:418-25.

160. Rubio-Tapia A, Murray JA. Classification and management of refractory coeliac disease. *Gut* 2010;59:547-57.
161. Rubio-Tapia A, Herman ML, Ludvigsson JF, et al. Severe spruelike enteropathy associated with olmesartan. *Mayo Clin Proc* 2012;87:732-8.
162. Weclawiak H, Ould-Mohamed A, Bournet B, et al. Duodenal villous atrophy: a cause of chronic diarrhea after solid-organ transplantation. *Am J Transplant* 2011;11:575-82.
163. Houtman PM, Hofstra SS, Spoelstra P. Non-coeliac sprue possibly related to methotrexate in a rheumatoid arthritis patient. *Neth J Med* 1995;47:113-6.
164. Song D, Shi B, Xue H, et al. Confirmation and prevention of intestinal barrier dysfunction and bacterial translocation caused by methotrexate. *Dig Dis Sci* 2006;51:1549-56.
165. Alper A, Hardee S, Rojas-Velasquez D, et al. Prevalence, Clinical, Endoscopic and Pathological Features of Duodenitis In Children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2015.
166. Tinto N, Cola A, Piscopo C, et al. High Frequency of Haplotype HLA-DQ7 in Celiac Disease Patients from South Italy: Retrospective Evaluation of 5,535 Subjects at Risk of Celiac Disease. *PLoS One* 2015;10:e0138324.
167. Bergseng E, Dorum S, Arntzen MO, et al. Different binding motifs of the celiac disease-associated HLA molecules DQ2.5, DQ2.2, and DQ7.5 revealed by relative quantitative proteomics of endogenous peptide repertoires. *Immunogenetics* 2015;67:73-84.
168. Vivas S, Ruiz de Morales JG, Riestra S, et al. Duodenal biopsy may be avoided when high transglutaminase antibody titers are present. *World J Gastroenterol* 2009;15:4775-80.
169. Dahlbom I, Korponay-Szabo IR, Kovacs JB, et al. Prediction of clinical and mucosal severity of coeliac disease and dermatitis herpetiformis by quantification of IgA/IgG serum antibodies to tissue transglutaminase. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2010;50:140-6.
170. Rostami K, Kerckhaert J, von Blomberg BM, et al. SAT and serology in adult coeliacs, seronegative coeliac disease seems a reality. *Neth J Med* 1998;53:15-9.
171. Nenna R, Mora B, Megiorni F, et al. HLA-DQB1*02 dose effect on RIA anti-tissue transglutaminase autoantibody levels and clinicopathological expressivity of celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2008;47:288-92.
172. Mubarak A, Spierings E, Wolters VM, et al. Children with celiac disease and high tTGA are genetically and phenotypically different. *World J Gastroenterol* 2013;19:7114-20.
173. Araya M, Oyarzun A, Lucero Y, et al. DQ2, DQ7 and DQ8 Distribution and Clinical Manifestations in Celiac Cases and Their First-Degree Relatives. *Nutrients* 2015;7:4955-65.
174. Kostopoulou O, Devereaux-Walsh C, Delaney BC. Missing celiac disease in family medicine: the importance of hypothesis generation. *Med Decis Making* 2009;29:282-90.